ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АЭРОМОНОЗА / СМЕШАННОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ РЫБ

(Aeromonosis/Mixed Bacterial hemorrhagic fish septicemia) (MBHFS)

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
ФГБНУ «Краснодарский научный центр
по зоотехнии и ветеринарии»

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
ФГБУ «Краснодарская МВЛ»

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АЭРОМОНОЗА / СМЕШАННОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ РЫБ
(Aeromonosis / Mixed Bacterial hemorrhagic fish septicemia) (MBHFS)

Методические рекомендации

Краснодар 2020

УДК 578.81

Рецензент
А.А. Лысенко – профессор кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т Трубилина», доктор ветеринарных наук, профессор

Лабораторная диагностика аэромоноза / смешанной бактериальной геморрагической септицемии рыб: методические рекомендации / В.М. Басанкина, С.В. Пруцаков, Н.Ю. Басова, Д.В. Осепчук, Н.Н. Забашта, Г.А. Саркисова, С.Б. Радуль, А.В. Басанкин. – Краснодар: ФГБНУ КНЦЗВ, 2020. – 80 с.

В методических рекомендациях рассмотрены причины возникновения заболевания, наиболее распространенные возбудители, клиническая картина, патологоанатомические изменения и современные способы высокоэффективной и экономически обоснованной диагностики.

Настоящие методические рекомендации предназначены для специалистов ветеринарных и ихтиопатологических лабораторий, научных работников исследовательских институтов, а также студентов.

Методические рекомендации рассмотрены и рекомендованы к изданию на заседании Ученого совета ФГБНУ КНЦЗВ, протокол № 4 от 30 июля 2020 г.

УДК 578.81

© Басанкина В.М.
© Пруцаков С.В.
© Басова Н.Ю.
© Осепчук Д.В.
© Забашта Н.Н.
© Саркисова Г.А.
© Радуль С.Б.
© Басанкин А.В.
© ФГБНУ КНЦЗВ

ISBN 978-5-906643-39-1
DOI: 10.34617/4vxe-a787

Методическое руководство разработали:

Басанкина В.М.	ветеринарный врач отдела бактериологии ФГБУ «Краснодарская межобластная ветеринарная лаборатория»
Пруцаков С.В.	ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологии, микологии и ветсанэкспертизы Краснодарского НИВИ – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», доктор ветеринарных наук
Басова Н.Ю.	заведующий отделом терапии и акушерства Краснодарского НИВИ – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», доктор ветеринарных наук
Осепчук Д.В.	директор ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», доктор сельскохозяйственных наук
Забашта Н.Н.	директор Краснодарского НИВИ – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», доктор сельскохозяйственных наук
Саркисова Г.А.	заведующая отделом бактериологии ФГБУ «Краснодарская межобластная ветеринарная лаборатория»
Радуль С.Б.	заведующий отделом питательных сред ФГБУ «Краснодарская межобластная ветеринарная лаборатория»
Басанкин А.В.	заместитель начальника отдела организации противоэпизоотических мероприятий и лечебно-профилактической работы департамента ветеринарии Краснодарского края, кандидат ветеринарных наук

Авторы выражают благодарность научным сотрудникам Сабанчиевой Людмиле Кызировне, сотруднику Кабардино-Балкарского научного центра Российской академии наук (КБНЦ РАН), за практическую помощь в исследовательской работе, Шубиной Галине Викторовне, заведующей лабораторией ГБУЗ «Специализированная клиническая инфекционная больница», Журавлевой Елене Владимировне, заведующей лабораторией ГБУЗ «Специализированная клиническая инфекционная больница», а также Детушеву Константину Владимировичу, младшему научному сотруднику ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора».

Методические рекомендации содержат актуальную инфор-

мацию о широко распространенном в рыбоводных хозяйствах инфекционном заболевании рыб смешанной этиологии. На основе анализа последних литературных данных и собственных практических исследований описаны: этиология, патогенез, клинические признаки, патологоанатомические изменения и современные методы лабораторной диагностики аэромоноза / смешанной бактериальной геморрагической септицемии рыб, которые позволят оценивать эпизоотологическую обстановку и возможность ее изменения за счет разработки системы практических действий на предупреждение, снижение и ликвидацию заболевания в рыбоводных хозяйствах современного уровня.

Методическое руководство предназначено для использования в научно-исследовательских организациях, занимающихся болезнями пресноводных видов рыб, а также в практической деятельности межрегиональных, краевых (областных), республиканских, районных ветеринарных лабораторий, научных сотрудников, студентов и слушателей курсов повышения квалификации.

Содержание

Введение…….. 6

Глава 1. Этиология…… 8

Глава 2. Эпизоотология…… 11

Глава 3. Патогенез……. 12

Глава 4. Общие положения и область применения……... 14

Глава 5. Правила отбора материала, упаковка и транспортировка……... 19

Глава 6. Вскрытие особей…… 21

Глава 7. Диагностика…… 26

7.1. Клинические признаки и патологоанатомичские изменения……. 26

7.2. Микроскопическое исследование…… 32

7.3. Бактериологическое исследование материала классическим методом…….. 33

7.4. Исследование материала экспресс-методом……... 47

7.4.1. При помощи одноразовых наборов для биохимической идентификации бактерий…… 47

7.4.2. При помощи масс-спектрометра MALDI-ToF MS…… 48

7.5. Определение вирулентности косвенным методом……. 50

7.6. Определение вирулентности постановкой биопробы……..…… 52

Глава 8. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам…… 55

Глава 9. Выписка протокола исследования по результатам лабораторного исследования…….. 56

Глава 10. Рецептура питательных сред……..... 57
Приложения…….. 65
Список сокращений и условные обозначения……..... 69
Список использованной литературы……..... 71

Список использованной литературы

1 Бауэр, О.Н. Болезни прудовых рыб / О.Н. Бауэр, В.А. Мусселиус, Ю.А. Стрелков // М: Колос. – 1969. – С. 43–54.

2 Блинов, А.И. Аэромонады: выделение, идентификация и дифференциация / А.И. Блинов, Н.А. Глушанова // Учебно-методические рекомендации. Новокузнецк. – 1997. – С. 8–10.

3 Болезни рыб. Краткий курс лекций для студентов IV курса направление подготовки 35.03.08 Водные биоресурсы и аквакультуры Министерство сельского хозяйства Российской Федерации / Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова». – Саратов. – 2016. – С. 4–7.

4 Борисенко, В.Ф. Свойства аэромонад и их значение в интенсивно эксплуатируемых рыбоводных прудах: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.10; 03.00.19 / В.Ф. Борисенко – М. – 1991. – 30 с.

5 Борисова, М.Н. Новые препараты для лечения аэромоноза карпов / М.Н. Борисова, Т.М. Новоскольцева, И.П. Иренков // Ветеринарный консультант. – № 5. – 2004. – С. 20.

6 Бутко, М.П. Дезинфекция зимовальных комплексов при аэромонозе карповых рыб / М.П. Бутко, М.В. Неретин // Ветеринария. – № 7. – 2010. – С. 38–43.

7 Васильев, Д.А. Учебно – методическое пособие по методам общей бактериологии / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.М. Никишина. – Ульяновск. – 1998. – 151 с.

8 Викторов, Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий Pseudomonas putida: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.02.03; 03.01.06 / Д.А. Викторов – Саратов. – 2011. – 22 с.

9 Гаврилин, К.В. Уровень чувствительности возбудителей бактериальных болезней рыб к антибактериальным препаратам / К.В. Гаврилин // Ветеринарная патология. – № 3. – 2008. – С.

91–94.

10 Гончарова, М.Н. Лечебно-профилактическая эффективность Антибака при аэромонозе, псевдомонозе, флексибактериозе рыб: дис. канд. биол. наук: 06.02.02 / М.Н. Гончарова – М. 2012. – 173 с.

11 Горшков, И.Г. Биологические особенности бактерий рода Aeromonas и методы их диагностик / И.Г. Горшков, Т.И. Канаева // Актуальные вопросы микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и биотехнологии. – Том 3. – 2010. – С. 27–35.

12 ГОСТ 31339 – 2006 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб (с Изменениями № 1, 2)».

13 Инструкция о мероприятиях по профилактике и мерам борьбы с фурункулезом лососевых рыб от 26.11.1997 № 13-4-2 / 1090, утверждена Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации.

14 Инструкция о мероприятиях по борьбе с аэромонозом карповых рыб от 17.08.1998 № 13-4-2 / 1366, утверждена Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации.

15 Казарникова, А.В. Заболевания осетровых рыб при искусственном воспроизводстве и товарном выращивании /А.В. Казарникова, Е.В. Шестаковская // Кольский научный центр, Мурманский морской биологический институт. – Апатиты, – 2005. – С. 6.

16 Конев, Н.В. Нормальная микрофлора рыб и ее роль в возникновении бактериальных заболеваний, вызванных стрессом / Н.В. Конев // Научные тетради. – Выпуск № 4. – 1996. – С. 8–22.

17 Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологического исследования / А.С. Лабинская, Л.П. Блинкова, Л.П. Ещина // М.: Медицина. – 2004. С. 55–62.

18 Макаров, В.В. Эпизоотологический метод исследования /

В.В. Макаров, А.В. Святковский, В.А. Кузьмин, О.Н. Сухарев // СПб.: Лань. – 2009. – 144 с.

19 Методические указания по лабораторной диагностике аэромоноза (краснухи) карпов от 23.04.1986 № 13-3 / 5, утверждены Главным управлением ветеринарии Госагропрома СССР.

20 Методические указания по диагностике эритродерматита карпа от 09.12.1997 № 13-4-2 / 1115, утверждены Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации.

21 Методические указания по определению патогенности аэромонад по степени ДНКазной активности от 09.12.1997 № 13-4-2 / 1116, утверждены Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации.

22 Методические рекомендации от 24.04.2014 № 4.2. 0089 – 14 «Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ ионизацией (MALDI – ToF MS) для индикации и идентификации возбудителей I-II групп патогенности», утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

23 Методические указания МУК 4.2.1890 – 04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации – Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г.Г. Онищенко 4.03.2004.

24 Новоскольцева, Т.Н. Аэромоноз карпов: совершенствование мер борьбы и профилактики болезни: автореф. дис. канд. биол. наук: 16.00.03 / Т.Н. Новоскольцева. – М. – 2002. – 30 с.

25 Померанцев, Д.А. Аэромоноз карповых рыб в водоемах с различной техногенной нагрузкой / Д.А. Померанцев // Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – № 1. – 2010. – С.199–211.

26 Пученкова, С.Т. Аэромонадная инфекция у культивируемых рыб / С.Т. Пученкова, Т.В. Безгамина // Рыбное хозяйство. – № 12. – 1991. – С. 68–69.

27 Розанов, Н.И. Микробиологическая диагностика заболеваний сельскохозяйственных животных / Н.И. Розанов // Государственное издательство сельскохозяйственной литературы. – Москва. – 1952. – С. 12–17.

28 Санитарные правила 1.2.036 – 95 «Порядок учета, хранения, отпуска и транспортирования ПБА I – IV групп», утверждены постановлением Госкомсанэпиднадзора России от 28.08.1995 № 14.

29 Санитарные правила 1.3.2322 – 08 «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», утверждены постановлением главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2008 № 4.

30 Санитарные правила 1.3.2885 – 11 «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Дополнения и изменения № 2 к Санитарным правилам 1.3.2322 – 08, утверждены постановлением главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29.06.2011 № 86.

31 Устименко, Е.А. Возбудитель фурункулеза A. salmonicida у половозрелой нерки (Oncorhynchus nerca Walbaum) из оз. Азабачье / Е.А. Устименко, Н.В. Сергеенко // Вопросы рыболовства. – Т.12. – № 3 (47). – 2011. – С. 576 – 586.

32 Устименко, Е.А. Бактериальные инфекции у тихоокеанских лососей при искусственном воспроизводстве на Камчатке: автореф. дис. канд. биол. Наук / Е.А. Устименко. Петропавловск-Камчатский. – 2012. – С. 24–27.

33 Юхименко, Л.Н. Итоги изучения Aeromonas salmonicida, выделенных от дальневосточных лососей / Л.Н. Юхименко, К.А. Лобунцов, В.Ф. Викторова, И.М. Золоторева, Э.Н. Заплечникова, И Сун Дя // Тр. ВНИИПРХ, Вып. 40. – 1982. – С. 44–53.

34 Юхименко, Л.Н. Биологические свойства аэромонад, их изменчивость и влияние на развитие инфекционного процесса / Л.Н. Юхименко, Н.В. Гусева // Паразиты и болезни рыб: сб. науч. тр. – М.: ВНИРО. – 2000. – С. 152–156.

35 Яременко, Н.А. Эпизоотическая обстановка по заразным болезням рыб в Российской Федерации /Н.А. Яременко, А.Н. Мачнев // Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре. Материалы научно-практической конференции. М.: Россельхозакадемия – 2000. – С. 10–13.

36 Beaz-Hidalgo, R. Comparison of phenotypical and genetic identification of Aeromonas strains isolated from diseased fish / R. Beaz-Hidalgo, A. Alperi, N. Buján, J.L. Romnalde, M.J. Figueras // Systematic and Applied Microbiology 33. – 2010. – P. 149–153.

37 Borrell, N. Phenotypic identification of Aeromonas genomospecies from clinical and environmental sources / N. Borrell, M.J. Figueras,

38 J. Guarro // Canadian Journal of Microbiology. – vol. 44. – № 2. – 1998. – P. 103–108.

39 Cascón, A. Cloning characterization, and insertional inactivation of a major extracellular serine protease gene with elastolytic activity from Aeromonas hydrophila / A. Cascón, J. Fregeneda, M. Aller, J. Yu- gueros, A. Temprano, C. Hernanz, M. Sanchez, L. Rodríguez-Aparicio, G. Naharro // Journal of Fish Diseases 23. – 2000. – P. 49–59.

40 Du, Y. The impact of Aeromonas salmonicida infection on innate immune parameters of Atlantic salmon (Salmo salar L) / Y. Du, M. Yi, P. Xiao, L. Meng, X. Li, G. Sun, Y. Liu //Fish Shellfish Immunol. – Vol. 25. – 2015. – P. 88–91.

41 Esteve, C. Pathogenic Aeromonas hydrophila serogroup O:14 and O:81 strains with an S layer / C. Esteve, E. Alcaide, Canals et al. // Applied and Environmental Microbiology. – Vol. 70. – № 10. – 2004. – P. 5898–5904.

42 Eurell, T.E. Comparison of selected diagnostic tests for detection

of motile Aeromonas septicaemia in fish /T.E. Eurell, D.H. Lewis, L.C. Grumbles //American Journal of Veterinary Research 39. – 1978. – P. 1384–1386.

43 Garduno, Rafael A. Physiological consequences of the S-layer of Aeromonas salmonicida in relation to growth, temperature, and outer membrane permeation / Rafael A. Garduno, Barry M. Phipps, William W. Kay // Can. J. Microbiol. – Vol. 40. – № 8. – 1994. – P. 622 –629.

44 Honey, M., Furunculosis (Aeromonas salmonicida), in Fish Diseases and Disorders III: Viral, Bacterial and Fungal Infections / M. Honey, G. Olivier, P.T.K. Woo, D.W. Bruno // CAB Publishing, Oxford. UK. – 1999. – P. 341–425.

45 Isoken, H.I. Emerging Aeromonas Species Infections and Their Significance in Public Health / H.I. Isoken, U.I. Ehimario, A. Farhadi, T. Mvuyo, A.I. Okoh // The Scientific World Journal. – Vol.2 – 2012.–P. 13.

46 Kingsbury, Oliver R. A Possible Control of Furunculosis / liver R. Kingsbury // The Progressive Fish-Culturist. 23 (3). – 1961. – P. 136–137.

47 Kimura, T.A. New subspecies of Aeromonas salmonicida as an etiological agent of furunculosis on «Sakurumasu» (O. masou) and pinc salmon (O. gorbusha) rearing for maturity 1 / T.A. Kimura // Fish Phathol. – Tokyo. – Vol. 3. – 1969. – P. 34–44, 45–52.

48 Kumar, D. Furunculosis: the history of the diseases and of disease research, in Furunculosis, Multidisciplinary Fish Disease Research / D. Kumar E. M. Bernoth, A. E. Ellis, P. J. Midtlyng, G. Olivier, P. Smith // Academic Press, London, UK. – 1997. – P. 1–20.

49 Lallier, R. Difference in the extracellular products of two strains of Aeromonas hydrophila virulent and weakly virulent for fish / R. Lallier, F. Bernard, G. Lalonde // Canadian Journal of Microbiology 30. – 1984. – P. 900–904.

50 MacInnes, J.I. Deoxyribonucleic acid relationships among mem-

bers of the genus Aeromonas / J.I. MacInnes, T.J. Trust, J.H. Crosa // Canadian Journal of Microbiology 25. – 1979. – P. 579–586.

51 Masada, C. L. An Aeromonas salmonicida type IV pilin is required for virulence in Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) / C.L. Masada, S.E. LaPatra, A.W. Morton, M.S. Strom // Dis Aquat Organ. – Vol. 15. – № 51 – 2002. – P.13–25.

52 Miyazaki, T. A histopathological study on motile aeromonad disease of Crucian carp. / T. Miyazaki, N. Kaige // Fish Pathology 21. – 1985. – P. 181–185.

53 Morozova, P. Identification and pathogenicity to rainbow trout., Oncorhynchus mykiss (Walbaum), of some aeromonads / P. Morozova, M. Barker, D.A. Austin, B. Austin // Journal of Fish Diseases 32. – 2009. – P. 865–871.

54 Murray, R.G.E. Structure of an S layer on a pathogenic strain of Aeromonas hydrophila /R.G.E. Murray, J.S.G. Dooley, P.W. Whippey, T.J. Trust//Journal of Bacteriology 170. – 1988. – P. 2625–2630.

55 Nielsen, J.E. Plasmid profiling as an epidemiological marker within Aeromonas salmonicida / J.E. Nielsen, J. Olsen, L. Larsen // Dieases of aquatic organisms. – Vol. 15. – 1993. – P. 129–135.

56 Noterdaeme, L. Biochemical and physiological characteristics and plasmid profiles of Aeromonas hydrophila strains isolated from freshwater fish and from fresh water / L. Noterdaeme, S. Bigawa, K.A. Willams, F. Ollevier // Journal of Fish Diseases. – vol. 14. – № 3. – 1991. – P. 313–321.

57 Nzeako, B.C. Variation in Aeromonas hydrophila surface structures / B.C. Nzeako // Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 11. – 1991. – P. 176–179.

58 Paterson, W.D. Biochemical and serological differentiation of several pigment-producing aeromonads / W.D. Paterson // Journal of the Fisheries Research Board of Canada 31. – 1974. – P. 1259–1261.

59 Ross, A.D. Isolation of a pigment-producing strain of Aeromonas

liquefaciens from silver salmon (Oncorhynchus kisutch) / A.D. Ross // Journal of Bacteriology 84. – 1962. – P. 590–591.

60 Santos, Y. Virulence properties and enterotoxin production of Aeromonas strains isolated from fish / Y. Santos, A.E. Toranzo, J.L. Barja, T.P. Nieto, T.G. Villa // Infection and Immunity 56. – 1988. – P. 3285–3293.

61 Stevenson, R.M.W. Extracellular virulence factors in Aeromonas hydrophila disease processes in salmonids / R.M.W. Stevenson, B.J. Allan // Developments in Biological Standardization 49. – 1981. – P. 173–180.

62 Thune, R.L. Extracellular products and endotoxin from Aeromonas hydrophila: effect on age-0 channel catfish / R.L. Thune, T.E. Graham, L.M. Riddle, R.L. Amborski // Transactions of the American Fisheries Society 111. – 1982. – P. 404–408.

63 Ugajin, M. Studies on the taxonomy of major microflora on the intestinal contents of salmonids / M. Ugajin // Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 45. – 1979. – P. 721–731.

64 Wooster, Gregory A. The Aerobiological Pathway of a Fish Pathogen: Survival and Dissemination of Aeromonas salmonicida in Aerosols and its Implications in Fish Health Management / Gregory A. Wooster, Paul R. Bowser // Journal of the World Aquaculture Society.27. – 1996. – P. 7–14.

65 Michel, C. Persistence of the virulence of Aeromonas salmonicida strains kept in river sediments / C. Michel, A. Dubois-Darnaudpeys // Annals of Veterinary Research. – № 11(4). – 1980. – P. 375–380.

Электронные ресурсы:

66 https://aquarium-fish-home.ru/bolezni-akvariumnyx-rybok /aeromonoz-prichinylecheniesimptomy/html.

67 https://studwood.ru/2475969/agropromyshlennost/aero-monoz_karpov

68 https://www.morkniga.ru/pdf/827543.pdf

69 https://studopedia.su/15_124173_fenotipicheskaya-izmen-chivost.html

70 https://doi.org/10.17116/labs20187278–86

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АЭРОМОНОЗА / СМЕШАННОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ РЫБ (Aeromonosis/Mixed Bacterial hemorrhagic fish septicemia) (MBHFS)

Методические рекомендации

Подписано в печать 30.07.2020 г. Формат 60 х 84 1/16.
Бумага офсетная 80 г/м^2. Офсетная печать.
Заказ №200040. Тираж 500 экз.

Издательство «ЭДВИ».
Россия, 350012, г. Краснодар, ул. Лукьяненко, 95/3
Тел./факс: (861) 222-01-02, 222-75-55, 220-12-56
e-mail: info@edvi.ru