

УДК 597.552.1:639.2.09:556.55 (470.22)

Ключевые слова: чума шук, язвы, аэромонады, санитарно-показательные микроорганизмы

Key words: pike plague, ulcers, aeromonads, sanitary indicator microorganisms

Паршуков А. Н., Иешко Е. П., Ильмаст Н. В., Юхименко Л. Н., Дружинина А. А.,
Тархов С. В.

СЛУЧАИ ИНФЕКЦИОННОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ЩУК (*ESOX LUCIUS*) В ОЗЕРЕ КАМЕННОЕ (БАССЕЙН БЕЛОГО МОРЯ) *THE CASES OF INFECTIOUS DISEASE OF THE PIKE (ESOX LUCIUS) IN LAKE KAMENNOYE (THE WHITE SEA BASIN)*

¹ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук
Адрес: 185910, Россия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11. Тел. +7 (814) 276-60-40

¹*Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences
Address: 185910, Russia, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11. Tel. +7 (814) 276-60-40*

²ФГУП Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства
Адрес: 141821, Московская область, Дмитровский район, поселок Рыбное. Тел. +7 (495) 993-81-86

²*All-Russian Research Institute of Freshwater Fisheries
Address: 141821, Russia, Moscow Region, Dmitrov district, Rybnoye. Tel. +7 (495) 993-81-86*

³ФГБУ Государственный природный заповедник «Костомукшский»
Адрес: 186930, Россия, г. Костомукша, ул. Приозерная, 2. Тел. +7 (814) 595-45-24

³*Kostomukshsky, State Nature Reserve
Address: 186930, Russia, Kostomuksha, Priozernaya str., 2. Tel. +7 (814) 595-45-24*

Паршуков Алексей Николаевич, к. б. н., научн. сотр. лаборатории паразитологии животных и растений¹
*Parshukov Aleksey N., Ph.D. in Biological Sciences, Researcher Scientist
of the Laboratory for Animal and Plant Parasitology¹*

Иешко Евгений Павлович, д. б. н., проф., зав. лабораторией паразитологии животных и растений¹
Ieshko Evgeny P., Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory for Animal and Plant Parasitology¹

Ильмаст Николай Викторович, д. б. н., проф., зав. лабораторией экологии рыб и водных беспозвоночных¹
*Ilmast Nikolay V., Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory
for Fish and Water Invertebrate Ecology¹*

Юхименко Людмила Николаевна, к. б. н., вед. науч. сотрудник лаборатории ихтиопатологии²
*Yukhimenko Ludmila N., Ph.D. in Biological Sciences, Leading Research Scientist
of the Laboratory for Ichthyopathology²*

Дружинина Алевтина Анатольевна, мл. науч. сотрудник лаборатории ихтиопатологии²
Druzhinina Alevtina A., Junior Researcher Scientist of the Laboratory for Ichthyopathology²

Тархов Сергей Вадимович, директор³ / *Tarkhov Sergey V., Director³*

Аннотация. В озере Каменное (Костомукшский заповедник) впервые зарегистрировано массовое инфекционное поражение щук с признаками заболевания «чума щук». Бактериологические исследования органов и тканей рыб в июне 2013–2014 гг. позволили идентифицировать аэромонад – *Aeromonas sobria* и *Aeromonas* sp. 5, однако специфичный для этого заболевания этиологический агент *Aeromonas punctata forma pelis* не был найден. Состав микрофлоры в 2013 г. оказался более разнообразным, чем в 2014 г., а обнаруженные микроорганизмы *Aeromonas*, *Moraxella* и *Acinetobacter* способны вызывать у рыб бактериальную геморрагическую септицемию.

Summary. Mass infection of the pike with the signs of "pike plague" was recorded in Lake Kamennoye (Kostomukshsky Reserve) for the first time. The bacteriological studies of organs and tissues of the fish allowed to identify aeromonads – *Aeromonas sobria* and *Aeromonas* sp. 5 in June 2013–2014. However, the etiological agent *Aeromonas punctata forma pelis* specific to the disease was not found. The composition of the microflora in 2013 proved to be more diverse than one in 2014, and the discovered microorganisms, namely *Aeromonas*, *Moraxella* and *Acinetobacter* were able to cause fish bacterial hemorrhagic septicemia.

Введение

Применяющееся в литературе выражение «чума щук» выступает как обозначение болезни, которое не имеет ничего общего как с острым природно-очаговым инфекци-

онным заболеванием – чумой, так и с видовой принадлежностью, поражая, кроме щук, и другие виды рыб. По данным авторов [8] в 1968 г. на озере Большой Берчикуль «чума щук» привела к массовой гибели окуня

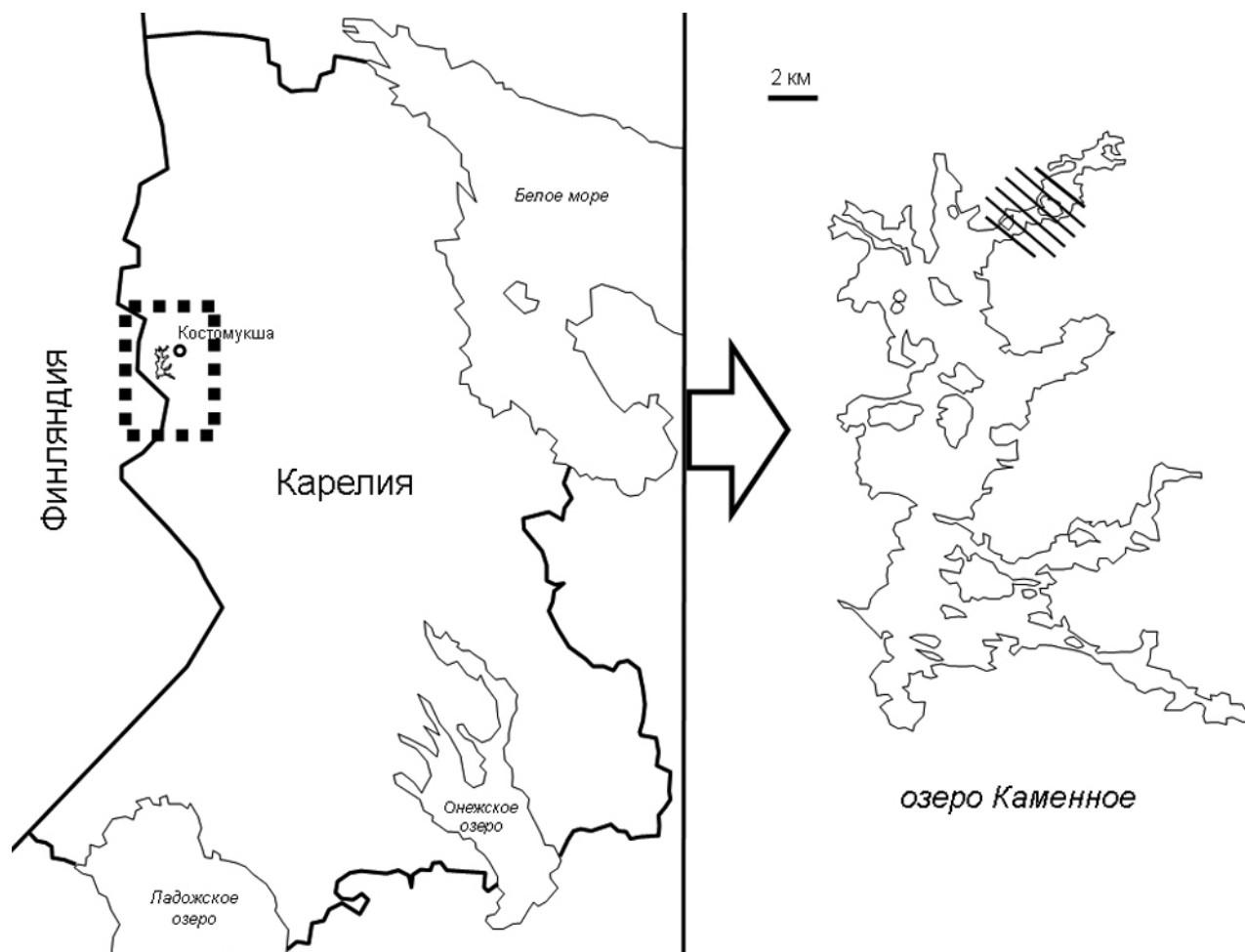


Рис. 1. Озеро Каменное, район взятия проб.

и ерша, а в одном из учебных пособий [4] авторы выделяют, помимо чумы щук, еще чуму лососей и сегов.

Данные о заболевании регистрируются начиная с двадцатых годов XX столетия, однако до сих пор возбудитель окончательно не установлен. В литературе [9, 4] приводится подробное описание чумы щук с историческими сведениями, общей картиной заболевания, предполагаемыми возбудителями, опытами и специфичными признаками, но в последующих трудах [10] «чума щук» по-прежнему определяется как болезнь с недостаточно изученной этиологией. Дальнейшим этапом в развитии знаний об инфекции стали данные, которые позволили отнести ее к разделу «слабо изученные болезни предположительно бактериальной природы» [1]. Согласно современным представлениям Головина и др. (2007), считается, что в солоноватых водах чуме щук соответствует болезнь под названием вибриоз, тогда как в пресных водах встречается заболевание

со схожими признаками, за которым сохранилось название «чума щук». В большинстве случаев эпизоотия приурочена к весеннему периоду, совпадающему с нерестом щуки, а само заболевание может стать причиной скоротечной высокой смертности рыб.

В июне 2012 г. в озере Каменное, расположенном практически полностью в границах заповедника «Костомукшский», зафиксирован случай массовой гибели щуки. В данной статье представлены результаты изучения качественного состава микрофлоры внутренних органов щуки и определения первичного возбудителя инфекции.

Материалы и методы

Озеро Каменное (рис. 1) (64° 31' 59.5" с. ш. 30° 15' 21.7" в. д.) принадлежит к бассейну Белого моря (водосбор реки Кемь) и является одним из верхних звеньев системы реки Чирка-Кемь.

Исследованный водоем входит практически целиком в границы ГЗ «Костомукш-

ский», и в связи с этим рыбное сообщество не испытывает антропогенного влияния как со стороны промысла, так и загрязнения вод.

Материалом для исследования стали 23 экз. щуки (*Esox lucius* L.), отловленные в озере Каменное в июне 2013 и 2014 гг. В местах, где производился лов рыбы, отобрано 15 проб воды.

Для выделения бактерий и их дальнейшего изучения у живой рыбы стерильно получены образцы паренхиматозных органов (печени и почек). Посев патматериала производили растиранием (метод «штриха») по секторам в чашках Петри на плотные питательные и элективные среды: эритроцит-агар, Эндо, Сабуро, энтерококкагар, висмутсульфит агар и кровяной агар (КА). Посевы инкубированы в термостатах при температуре 22 и 37 °С. Для описания морфологических свойств бактерий мазки окрашены по Граму, а затем исследованы при помощи светового микроскопа с иммерсией. Дополнительно проводился тест на определение цитохромоксидазы.

Для дальнейшего изучения отобранные колонии пересеивали на первично-дифференцирующую среду Клигlera. Идентификацию аэромонад проводили по признаку утилизации салицина, L-арабинозы и эскулина [11].

Отбор проб воды проведен в 9 местах с глубины 10–15 см от поверхности с обязательным соблюдением условий асептики и взятием материала в стерильную посуду в количестве 1 500 мл. Бутыли с водой плотно закрывали пробками и доставляли в течение 30 минут в передвижную лабораторию.

При микробиологической оценке воды использованы количественные (уровень обсемененности) и качественные (таксономические) показатели. Санитарно-микробиологический анализ включает определение основного показателя – индекса ЛКП – и дополнительных: количества сапрофитных микроорганизмов, индексов *Escherichia coli*, энтерококков, присутствия сальмонелл и шигелл.

Для установления систематической принадлежности изучаемых микроорганизмов использованы определители [6].

Встречаемость (Р) высчитывали как процент особей, загрязненных конкретным видом бактерий:

$$P = (N_i \times 100 \%) / N,$$

где N_i – число обсемененных рыб, N – число обследованных рыб.

Результаты исследований

Микрофлора рыб. На следующий год после массовой гибели рыб из 10 щук, пойманных в 2013 году, только у одной рыбы рост бактериальной флоры на питательных средах из печени и почек отсутствовал. Через год, в июне 2014 г., среди 13 изученных рыб у 11 посевы из внутренних органов оказались стерильными.

Максимальное разнообразие состава микрофлоры было обнаружено в 2013 г., когда на средах Эндо, эритроцит-агар и Сабуро выделены *Bacillus* sp., *Moraxella*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, бактерии группы кишечной палочки (БГКП), миксобактерии и плесневые грибы (рис. 2). В июне 2014 г. на этих же средах наблюдался рост небольшого числа бактерий, среди которых идентифицированы *Hafnia alvei*, *Plesiomonas* spp. и *Alcaligenes faecalis* (рис. 3).

В июне 2014 года у щуки весом более 2 кг на теле были отмечены язвы, в то время

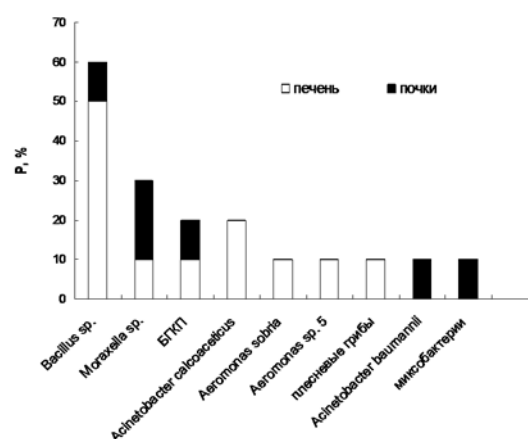


Рис. 2. Микробиоценоз щук из озера Каменное (2013 г.).

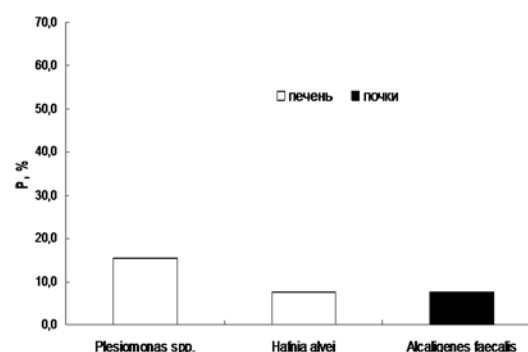


Рис. 3. Микробиоценоз щук из оз. Каменное (2014 г.).

Таблица 1.

Обнаружение внешних признаков заболевания и размерно-весовые показатели щук из озера Каменное в 2013–2014 гг.

Год	Рыбы по наличию или отсутствию язв	Количество рыб, экз.	Длина, см		Масса, г	
			min–max	М	min–max	М
2013	пораженные	2	36–53	45	411–1350	881
	непораженные	8	42–81	52	720–4300	1400
2014	пораженные	1	67	67	2600	2600
	непораженные	12	37–60	48	380–2000	993

как в 2013 г. внешние поражения кожи могли встречаться как у крупных, так и у более мелких особей весом около 400 г (табл. 1).

Микрофлора воды. В 2013 г. число сапрофитных бактерий на МПА оказалось на уровне менее чем 101 КОЕ/мл, во всех посевах присутствовали плесневые грибы и бактерии группы кишечной палочки, а в одной из проб – анаэробные аэромонады и моракселлы. В состав микрофлоры также входили бактерии *Bacillus sp.* и флавобактерии.

Общее число сапрофитных микроорганизмов в 2014 г. не превышало значение 20 КОЕ/мл. Из исследованных проб общие колиформные бактерии (ОКБ), термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ), возбудители кишечных инфекций и плесневые грибы не выделены. Бактериоценоз воды представлен грамположительной кокковой микрофлорой и идентифицированным видом *Bacillus cereus*.

Обсуждение результатов

В начале июня 2012 г. отмечалась высокая смертность щуки на озере Каменное. Наблю-

дающиеся у погибших рыб поражения кожи соответствовали признакам, которые указаны в литературе для болезни «чума щук»: различного рода язвы, без нагноений [9, 4, 1]. В основном такое название можно встретить в работах отечественных авторов, тогда как в зарубежных источниках приняты сочетания *pike disease*, *septicaemic or ulcerative infections* или *red sore disease*. Еще Шеперклаус считал, что от названия «чума щук» следует отказаться, поскольку оно вводит исследователей в заблуждение [17].

Гибель рыб в 2012 г. происходила в весенний посленерестовый период. В 2012–2013 гг. были отмечены только случаи встречаемости щук с язвами на теле (рис. 4), сведений о гибели рыб не было.

В ходе анализа бактериологических данных, полученных за 2013 и 2014 гг., установлено, что микробиоценоз паренхиматозных органов щуки представлен разнообразной микрофлорой, которую согласно определителю [6] можно разделить на 4 группы бактерий. *Группа 4.* Грамотрицательные, аэробные/микроаэрофильные палочки и кокки.



Рис. 4. Внешний вид повреждений (язвы) на поверхности тела у щук, пойманных в июне 2013 г.

Группа 5. Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки. *Группа 15.* Нефотосинтезирующие, не образующие плодовых тел скользящие бактерии. *Группа 18.* Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспores.

Из литературных описаний известно, что вопрос о составе кишечной микрофлоры у рыб достаточно хорошо изучен [14]. Относительно содержания микробного населения в паренхиматозных органах рыб нет единого мнения: одни авторы приводят аргументы в пользу встречаемости у здоровых рыб тех же микроорганизмов, что и у больных, но в меньшем объеме. Другие, наоборот, склоняются к полному отсутствию бактерий в печени, почках и селезенке [5]. Тем не менее полагаем, что выделение плесневых грибов и условно-патогенной микрофлоры (группа 4 и 5) из печени и почек у щук считается нетипичным и свиде-

тельствует о снижении защитных сил организма.

В 2013 г. клинические признаки заболевания в виде характерных язв на теле обнаружены только у самцов, микробиоценоз которых представлен видами *Moraxella sp.*, тогда как самки были внешне здоровы. Идентифицированные бактерии относятся к условно-патогенной микрофлоре и существенного вреда рыбе не приносят. Но заселение ими внутренних органов может ухудшать общее состояние организма и приводить к снижению темпов роста, стрессоустойчивости и иммунных реакций [12].

Помимо моракселл, наибольший интерес представляют ацинетобактерии и аэромонады (рис. 5), появление которых ассоциируется с развитием бактериальной геморрагической септицемии.

В сравнении с предыдущими годами данные 2014 г. по заболеванию рыб оказались бо-



А



Б

Рис. 5. Бактериальный рост на чашках Петри со средой Эндо (А) и Сабуро (Б). Посевы из паренхиматозных органов щуки (печень, почки).



Рис. 6. Внешний вид повреждений (язвы) на поверхности тела у щуки, пойманной в июне 2014 г.

лее благоприятными, поскольку количество случаев поражения щук уменьшилось и среди пойманных нами 16 экземпляров повреждение отмечено только для 1 особи (рис. 6).

У щуки с язвами выделить возбудителя инфекции также не удалось, но в посевах печени одной из особей из озера Каменное впервые за 2013–2014 гг. обнаружены представители рода *Hafnia*, вид *Hafnia alvei*.

Эти данные согласуются с тем, что известно в литературе. Энтеробактерии *Hafnia alvei* встречаются в кишечнике пресноводных рыб [13] и относятся к представителям нормальной микрофлоры щук [14]. Интересным остается то, что, по мнению зарубежных специалистов [16], бактерии *Hafnia alvei* способны поражать выращиваемую на фермах кумжу *Salmo trutta L.*, вызывая у нее признаки геморрагической септицемии. Таким образом, *Hafnia alvei* можно рассматривать в роли возможного этиологического агента при болезни чумы щук.

Также в микрофлоре щук в июне 2014 г. встречались *Plesiomonas spp.*, которые являются представителями нормальной микрофлоры рыб и широко распространены в пресных водоемах [15], и *Alcaligenes faecalis* – сапрофитные обитатели воды и кишечного тракта позвоночных [6].

Указанный в литературе возможный инфекционный возбудитель чумы щук *Aeromonas punctata forma pelis* не обнаружен, однако среди выделенных видов аэромонады встречались: это *Aeromonas sobria* и *Aeromonas sp. 5*. Известно также, что в Финляндии у больных щук из язв были выделены нетипичные формы бактерий *Aeromonas salmonicida*, привычно ассоциирующихся с фурункулезом лососевых рыб [18]. Ранее об этом же сообщала Plehn (1911), тем не менее посчитавшая недостаточно убедительной свою находку *A. salmonicida* у щук [9].

Проведенные исследования показали, что после вспышки заболевания и массовой гибели щуки на озере Каменное в 2012 г. в последующие годы наблюдается постепенное улучшение эпизоотической ситуации. В 2013 г. у рыб обнаружен широкий набор патогенов – ацинетобактеры, моракселлы и аэромонады, способных привести к разви-

тию бактериальной геморрагической септицемии. Однако клиническая картина и обсемененность внутренних органов летом 2014 г. характеризуются как более благоприятные из-за единичных случаев обнаружения язв на коже у рыб и низкого микробного числа.

По данным 2009–2011 гг. щука в озере Каменное встречалась повсеместно [2]. Предположительно, высокая численность щуки в водоеме могла стать причиной ее стрессированного состояния, что повлияло на интенсивное течение и распространение эпизоотии. Кроме того, в весенне-летний период после нереста особи сильно ослаблены, и способность противостоять развитию инфекции снижается. В подтверждение сказанному демонстрируется установленное разнообразие в 2013 году у щук условно-патогенной микрофлоры и плесневых грибов. Своего рода высокую смертность у щук можно рассматривать как природный механизм саморегуляции численности по разряжению переуплотненного рыбного населения.

Известно также, что качество водной среды оказывает влияние на развитие инфекционного процесса у рыб. При загрязнении водоема среда становится агрессивной за счет активизации роста численности и смены видового состава микрофлоры. В отношении проб воды из озера Каменное за период исследований наблюдается положительная динамика, где показатели 2014 г. соответствуют требованиям качества поверхностных водоемов. Общее число сапрофитных микроорганизмов не превышает 20 КОЕ/мл. В представленных пробах общие колиформные бактерии, термотолерантные колиформные бактерии, возбудители кишечных инфекций и плесневые грибы не выделены.

В 2013 году, несмотря на то что число сапрофитных бактерий на МПА было в пределах нормы (не более 10¹ КОЕ/мл), во всех посевах присутствовали плесневые грибы и бактерии группы кишечной палочки, а в одной из проб – анаэробные аэромонады и моракселлы, что характерно для органического загрязнения водоема.

Полученные результаты соотносятся с двухлетним периодом мониторинга аквато-

рии возле станции на озере Каменное при однократном взятии проб (один раз в год), что явно недостаточно и позволяет сделать лишь предварительные выводы о состоянии водоема и происходящих в нем процессах. При этом обязательно нужно учитывать все возможные условия отбора проб (климат, гидрология и т. д.), поскольку, как показали наблюдения, протоколы результатов исследований в один день могут указывать на загрязнение, а в другой – на полное соответствие выдвигаемым нормам и требованиям.

Заключение

Эпизоотическая ситуация на озере Каменное имеет общую положительную тенденцию в снижении уровня напряженности по бактериальному заболеванию чумой щук. Описанный в литературе возбудитель инфекции *Aeromonas punctata forma pelis* не найден, но по нашим данным возможным этиологическим агентом могут выступать *Aeromonas*, *Moraxella* sp. и *Hafnia alvei*. Для определения более точной картины причин развивающегося эпизоотического процесса и окончательного возбудителя инфекции рекомендуется продолжать ежегодный мониторинг состояния микрофлоры рыб и воды на озере Каменное.

Общее количество бактерий в пробах воды с озера Каменное летом 2013–2014 гг. соответствует нормам и колеблется в пределах от 10^1 – 10^3 КОЕ/мл.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств: федерального бюджета на выполнение государственного задания (Тема № 0221-2014-0004).

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования ИБ КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

Список литературы

1. Бауер, О. Н. Ихтиопатология / О. Н. Бауер, В. А. Мусселиус, В. М. Николаева, Ю. А. Стрелков. – М. : Пищевая промышленность, 1977. – 431 с.
2. Биота северных озер в условиях антропогенного воздействия. – Петрозаводск : Карельский научный центр РАН, 2012. – 230 с.
3. Головина, Н. А. Ихтиопатология / Н. А. Головина, Ю. А. Стрелков, В. Н. Воронин, П. П. Головин, Е. Б. Евдокимова, Л. Н. Юхименко ; под ред. Н. А. Головиной, О. Н. Бауера. – М. : Мир, 2003. – 448 с.
4. Догель, В. А. Бактериальные заболевания рыб / В. А. Догель, М. А. Пешков, Н. В. Гусева. – М. : Пищепромиздат, 1939. – 110 с.
5. Конев, Н. В. Нормальная микрофлора рыб и ее роль в возникновении бактериальных заболеваний, вызванных стрессом / Н. В. Конев // Научные тетради. – СПб. : ГосНИОРХ. – 1996. – Вып. № 4. – 46 с.
6. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М. : Мир, 1997. – 368 с.
7. Плотников, А. О. Морфофизиологическая характеристика бактерий, населяющих слизистую кишечника щуки (*Esox lucius* L.) / А. О. Плотников, Ж. В. Корнева, Г. И. Извекова // Биология внутренних вод. – 2010. – № 2. – С. 77–85.
8. Поляков, А. Д. Пути повышения продуктивности озера Большой Берчикуль / А. Д. Поляков, Г. Т. Бузмаков // Современные наукоемкие технологии: Материалы конференции. – 2005. – № 10. – С. 102–103.
9. Шерешевская, Н. В. Щучья чума / Н. В. Шерешевская // Известия Ленинградского научно-исследовательского ихтиологического института. – 1931. – Т. XII. – 135 с.
10. Щербина, А. К. Болезни рыб / А. К. Щербина. – Киев : Урожай, 1973. – 403 с.
11. Юхименко, Л. Н. Биологические свойства аэромонад и их роль в патологии рыб / Л. Н. Юхименко, Г. С. Койдан, Л. И. Бычкова, Л. П. Смирнов // Рыбное хозяйство. Серия: Болезни гидробионтов в аквакультуре. Аналит. и реф. информ. – М. : ВНИЭРХ, 2001. – Вып. 1. – С. 1–10.
12. Addis, M. Influence of *Moraxella* sp. colonization on the kidney proteome of farmed gilthead sea breams (*Sparus aurata*, L.) / M. Addis, R. Cappuccinelli, V. Tedde, D. Pagnozzi, I. Viale, M. Meloni, F. Salati, T. Roggio, S. Uzzau // Proteome Science. – 2010. – 8:50. – DOI 10.1186/1477-5956-8-50.
13. Austin, B. The bacterial microflora of fish / B. Austin // The Scientific World. – 2002. – 2. – P. 558–572. – DOI 10.1100/tsw.2002.137.
14. Izvekova, G. I. Taxonomic characteristics and physiological properties of microorganisms from the gut of pike (*Esox lucius*) / G. I. Izvekova, N. V. Nemtseva, A. O. Plotnikov // Biology Bulletin. – 2008. – Vol. 35. – Issue 6. – P. 592–598. – DOI 10.1134/S1062359008060058.
15. Jagger, T. D. *Plesiomonas shigelloides* - a veterinary perspective / T. D. Jagger // Reviews of infectious diseases. – 2000. – Vol. 2. – № 4. – P. 199–210.
16. Orozova, P. Recovery of *Hafnia alvei* from diseased brown trout, *Salmo trutta* L., and healthy noble crayfish, *Astacus astacus* (L.), in Bulgaria / P. Orozova, I. Sirakov, V. Chikova, R. Popova, A. H. Al-Harbi, M. Crumlish, B. Austin // Journal of Fish Diseases. – 2014. – Vol. 37. – Issue 10. – P. 891–898. – DOI 10.1111/jfd.12212.
17. Schäperclaus, W. Fish Diseases / W. Schäperclaus. – 1992. – Vol. 2. – P. 487.
18. Wiklund, T. Atypical *Aeromonas salmonicida* isolated from ulcers of pike, *Esox lucius* L. / T. Wiklund // Journal of Fish Diseases. – Vol. 13. – Issue 6. – 1990. – P. 541–544. – DOI 10.1111/j.1365-2761.1990.tb00815.x.