

Andrzej K. Siwicki¹, Jarosław Dastych², Ewelina Wójcik², Patrycja Schulz³,
Edyta Kaczorek³, Krzysztof Kazuń¹, Barbara Kazuń¹, Agnieszka Lepa¹,
Elżbieta Terech-Majewska⁴

¹Zakład Patologii i Immunologii Ryb, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

²Proteon Pharmaceuticals S.A.

³Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

⁴Katedra Epizootologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Zastosowanie bakteriofagów w ukierunkowanej terapii chorób bakteryjnych ryb – badania doświadczalne

Wstęp

Rybactwo śródlądowe należy do tej gałęzi produkcji zwierzęcej, która stosuje duże ilości chemioterapeutyków, w tym szczególnie antybiotyków. Kumulowanie się chemioterapeutyków w osadach dennych stanowi bezpośrednie zagrożenie dla środowiska wodnego oraz wpływa bezpośrednio na stan kondycyjny i zdrowotny ryb. Najbardziej niepokojącym zjawiskiem towarzyszącym chemioterapii jest narastający gwałtownie problem lekooporności. Oporność bakterii na antybiotyki rozwinęła się znacznie wcześniej, zanim zaczęto świadomie stosować te związki do celów leczniczych, ale ta wrodzona postać oporności nie stanowi poważnego zagrożenia dotyczącego lekooporności. Duże natomiast zagrożenie, powodujące wręcz niepokój, związane jest z nabytą lekoopornością powstałą na skutek zmienności genetycznej, mutacji oraz przekazywania materiału genetycznego pomiędzy bakteriami i następującemu po nich zjawisku selekcji.

Niepokojącym, obserwowanym w ostatnich latach zjawiskiem jest gwałtowny wzrost oporności patogennych dla ryb bakterii na antybiotyki i inne chemioterapeutyki dopuszczone do stosowania w rybactwie. Szczególnie dotyczy to patogennych bakterii z rodzajów *Aeromonas*, *Pseudomonas* czy *Yersinia*, które indukują masowe śnięcia w podchowach kontrolowanych ryb. Istnieje więc konieczność poszukiwania nowych wysoce skutecznych oraz nisko toksycznych metod ukierunkowanej terapii chorób bakteryjnych ryb. Stosowanie w hodowli ryb szeroko pojętej immunoprofilaktyki, przez wykorzystanie naturalnych i syntetycznych stymulatorów nieswoistej odporności oraz wdrożenie do praktyki szczepionek jest wymogiem chwili. Ich wprowadzenie do rutynowych zabiegów w znaczący sposób ograniczyło ilość używanych antybiotyków w akwakulturze (Siwicki i in. 1998, Siwicki i in. 2011).

Obecnie stosowanie preparatów zawierających wirusy bakteryjne przykuwa uwagę jako alternatywny sposób podejścia, zwłaszcza w leczeniu szerokiej gamy chorób, które są trudne do kontroli chemioterapeutykami (Cervený i in. 2002, Hanlon 2007, Kutateladze i Adamia 2010, Wageenaar i in. 2005).

Bakteriofagi, inaczej zwane fagami są wirusami, które atakują żywe i wrażliwe bakterie. Zajmują wszystkie te siedliska na świecie, gdzie mogą rozwijać się ich gospodarze. Stwierdza się ich obecność w wodzie słodkiej i słonej (morza i oceany), glebie oraz w organizmach zwierząt i człowieka (Dias i in. 2013, Drulis-Kawa i in. 2012, Hanlon 2007, Skurnik i Strauch 2006). Bakteriofagi są bardzo specyficznymi wirusami atakującymi bakterie. Elementy ich kapsydów wiążą się ze specyficznymi cząsteczkami na powierzchni docelowych gospodarzy. Bakterie, które takiego receptora nie posiadają nie mogą zostać zaatakowane. Jest to jeden z powodów dlaczego powszechnie uważa się, iż bakteriofagi nie mogą zakażać komórek organizmów bardziej złożonych (Dąbrowska i in. 2005).

Zdolność bakteriofagów do zabijania komórek bakteryjnych na koniec cyklu infekcyjnego jest podstawą pomysłu wykorzystania fagów jako środków terapeutycznych (Skurnik i Strauch 2006). Lityczne bakteriofagi są najbardziej odpowiednimi kandydatami do terapii, ponieważ ulegają szybkiemu namnożeniu i doprowadzają do lizy bakterii, a ich liczba rośnie wykładniczo w tym procesie (Boyd i in. 2001). Bakteriofagi przechodzące lizogenną reprodukcję są słabymi pretendentami do terapii, ponieważ nie zapewniają szybkiego wzrostu liczby fagów i skojarzonej lizy bakterii, co jest niezbędne, aby terapia okazała się skuteczna (Morrison i Rainnie 2004).

Skuteczność terapeutyczna bakteriofagów może zostać zwiększona, jeśli wykazują wysoką zjadliwość dla odpowiadającego im bakteryjnego gospodarza, są wolne od zanieczyszczających je toksyn bakteryjnych oraz

zdolne do unikania układu siateczkowo-śródbłonkowego. Opracowanie takiego preparatu bakteriofagowego może dostarczyć ważnych narzędzi w leczeniu chorób bakteryjnych (Merrill i in. 1996).

Terapia z zastosowaniem bakteriofagów ma dużo pozytywnych. Taki rodzaj leczenia wydaje się być pozbawiony negatywnych skutków, nawet przy długoterminowym narażeniu na duże dawki, co wynikać może z faktu, że bakteriofagi atakują wyłącznie komórki bakteryjne (Matsuzaki i in. 2005, Kumari i in. 2009).

Bakteriofagi najprawdopodobniej nie posiadają zdolności do przełamania barier międzygatunkowych bakterii. Tak więc, nawet jeśli docelowe gatunki bakterii uzyskają oporność, mało prawdopodobne jest przeniesienie jej na inne gatunki (Morrison i Rainnie 2004). Ze względu na swoją specyficzność, leczenie za pomocą bakteriofagów ma wąskie spektrum przeciwbakteryjne o działaniu ograniczonym do jednego gatunku lub, w niektórych przypadkach, do pojedynczego szczepu w obrębie gatunku.

Wychodząc naprzeciw nowym wyzwaniom w 2013 roku podjęto w Polsce badania, w ramach projektu realizowanego przez firmę Proteon Pharmaceuticals S.A., dotyczące poszukiwania nowego leku zwalczającego bakterie u ryb. Celem projektu jest ocena możliwości zastosowania bakteriofagów w ukierunkowanej terapii chorób bakteryjnych, powodujących największe straty w chowie i hodowli ryb. Badania doświadczalne prowadzone w ramach tego projektu przez Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie, we współpracy z Katedrą Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej oraz Katedrą Epizootiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie, mają na celu określenie bezpieczeństwa i efektywności podawania bakteriofagów wybranym gatunkom ryb hodowlanych.

W niniejszej pracy przedstawiono wstępne wyniki badań nad efektem działania wyselekcjonowanych bakteriofagów w ograniczeniu śnięć, powodowanych przez patogenne bakterie z gatunku *Aeromonas hydrophila* u pstrąga tęczowego.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 300 sztukach narybku pstrąga tęczowego o masie ciała 50-100 g. Ryby użyte do badań doświadczalnych były w dobrej kondycji, klinicznie zdrowe, a badaniami mikrobiologicznymi wykluczono obecność patogennych wirusów: IPN, IHN i VHS oraz bakterii z rodzaju *Aeromonas*. Po adaptacji ryby do dalszych badań eksperymentalnych przetrzymywane były w temperaturze 15°C w obiegu zamkniętym z biofiltrem, w Katedrze Epizootiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie. Ryby karmiono paszą komercyjną (Aller Aqua Polska) w ilości odpowiedniej dla masy ciała i temperatury wody.

Do badań użyto preparatu Bafador-1 (Proteon Pharmaceuticals), zawierającego bakteriofagi wykazujące silne działanie lityczne wobec *Aeromonas hydrophila*. Preparat Bafador-1 w wybranych stężeniach bakteriofagów 1×10^8 PFU/ml oraz 1×10^9 PFU/ml stosowano w badaniach doświadczalnych, które były prowadzone w warunkach kontrolowanych, w obiegach zamkniętych zgodnie z wymogami Dobrej Praktyki Klinicznej Weterynaryjnej (GVCP).

Preparat Bafador-1 w różnych stężeniach był stosowany w kąpeli (immersji) trwającej 30 min w ilości 1 L/m^3 wody lub w iniekcji dootrzewnowej w ilości 0,2 ml/szt.

Zakażenia patogenną bakterią *Aeromonas hydrophila* (3B/UWM/03/13) wykonywano jedynie w iniekcji dootrzewnowo, używając dawki zakażającej 0,2 ml zawiesiny bakterii na rybę (2 MF).

Doświadczenie 1

W celu oceny wpływu preparatu Bafador-1 (1×10^8 PFU/ml), podawanego w immersji lub iniekcji, na przebieg śnięć po eksperymentalnym zakażeniu patogenną bakterią *A. hydrophila*, ryby podzielono na pięć grup, po 20 sztuk każda:

- I. Grupa kontrolna – ryby niezakażone oraz niepoddane działaniu Bafadoru;
- II. Grupa ryb zakażona bakteriami bez podania preparatu Bafador;
- III. Grupa ryb, którym podano Bafador w immersji, a 12 godzin później ryby zakażono patogennymi bakteriami;
- IV. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 12 godzin później podano preparat Bafador w immersji;
- V. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 12 godzin później podano preparat Bafador w iniekcji.

Ryby poddano obserwacji klinicznej oraz rejestrowano liczbę śnięć przez okres 10 dni po zakażeniu patogenną bakterią *A. hydrophila*. U śniętych ryb wykonywano badania anatomopatologiczne oraz pobierano próbki do badań bakteriologicznych, w celu reizolacji patogennej bakterii *A. hydrophila* z nerki, wątroby, śledziony, skrzeli oraz mózgu. Badania bakteriologiczne wykonano w Katedrze Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej UWM, zgodnie z wymogami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP).

Doświadczenie 2

W celu określenia wpływu preparatu Bafador-1 (1×10^8 PFU/ml), podawanego w immersji w różnych okresach (12, 24 oraz 48 godz.), na przebieg śnięć po eksperymentalnym zakażeniu patogenną bakterią *A. hydrophila*, ryby podzielono na pięć grup po 20 sztuk ryb:

- I. Grupa kontrolna – ryby niezakażone oraz niepoddane działaniu Bafadoru;
- II. Grupa ryb zakażona bakteriami bez podania preparatu Bafador;

- III. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 12 godzin później podano preparat Bafador w immersji;
- IV. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 24 godzin później podano preparat Bafador w immersji;
- V. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 48 godzin później podano preparat Bafador w immersji.

Ryby poddano obserwacji klinicznej oraz kontrolowano liczbę śnięć przez okres 10 dni po zakażeniu patogenną bakterią *A. hydrophila*. Śnięte ryby poddawano badaniom anatomopatologicznym oraz pobierano próbki do badań bakteriologicznych, w celu reizolacji patogennej bakterii *A. hydrophila* z nerki, wątroby, śledziony, skrzelii oraz mózgu. Badania bakteriologiczne wykonano w Katedrze Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej UWM, zgodnie z wymogami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP).

Doświadczenie 3

Celem badań było określenie wpływu zróżnicowanych stężeń bakteriofagów w preparacie Bafador-1 (1×10^8 PFU/ml oraz 1×10^9 PFU/ml), podawanego w immersji w różnym okresie (12 i 48 godz.), na przebieg śnieć po zakażeniu eksperymentalnym patogenną bakterią *A. hydrophila*. Doświadczenie wykonano na 100 szt. pstrąga tęczowego, które podzielono na pięć grup (po 20 ryb każda):

- I. Grupa kontrolna – ryby zakażone bakteriami;
- II. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 12 godz. później podano preparat Bafador (w stężeniu 1×10^8 PFU/ml) w immersji;
- III. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 12 godzin później podano preparat Bafador (w stężeniu 1×10^9 PFU/ml) w immersji;
- IV. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 48 godzin później podawano preparat Bafador (w stężeniu 1×10^8 PFU/ml) w immersji;
- V. Grupa ryb zakażona bakteriami, a 48 godzin później podano preparat Bafador (w stężeniu 1×10^9 PFU/ml) w immersji.

Ryby poddano obserwacji klinicznej oraz kontrolowano liczbę śnięć przez okres 10 dni po zakażeniu patogenną bakterią *A. hydrophila*. Śnięte ryby poddawano badaniom anatomopatologicznym oraz pobierano próbki do badań bakteriologicznych, w celu reizolacji patogennej bakterii *A. hydrophila* z nerki, wątroby, śledziony, skrzelii oraz mózgu. Badania bakteriologiczne wykonano w Katedrze Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej UWM, zgodnie z wymogami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP).

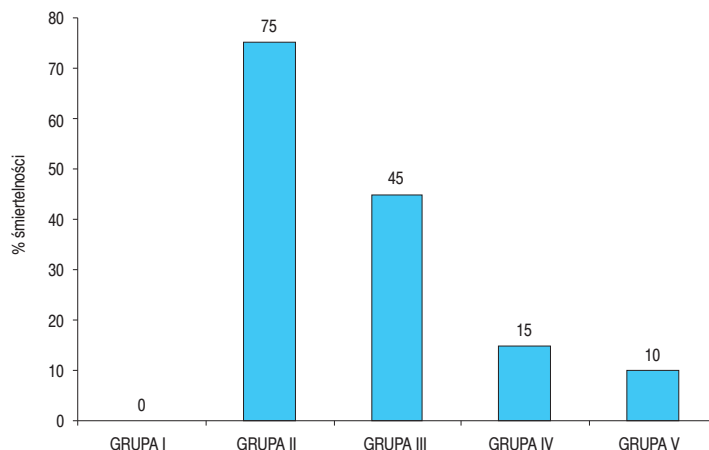
Wyniki i dyskusja

Badania podjęte przez Proteon Pharmaceuticals, we współpracy z Instytutem Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie oraz Wydziałem Medycyny Weterynaryjnej UWM, pozwoliły na uzyskanie

cennych danych, które posłużyły do utworzenia banku wysoce patogennych bakterii, powodujących największe straty w hodowli ryb w Polsce. Równocześnie stworzono kolekcję bakteriofagów aktywnych względem wybranych bakterii, w tym tak istotnych z patogennego punktu widzenia jak *Aeromonas hydrophila*. Dla wyizolowanych bakteriofagów została określona specyficzność, poprzez określenie ich zdolności litycznej wobec kolekcji izolatów wybranych gatunków bakterii. Na podstawie profilu specyficzności wybrano bakteriofagi o najwyższej aktywności litycznej, które scharakteryzowano na poziomie genetycznym. Na podstawie analizy fagowego DNA, wyizolowane bakteriofagi zakwalifikowano do rzędu *Caudovirales*, rodziny *Myoviridae*. Bakteriofagi te wykazują wysokie podobieństwo do grupy litycznych bakteriofagów T4, specyficznych w stosunku do bakterii z rodzaju *Aeromonas*.

Wybrane z uzyskanej kolekcji i scharakteryzowane genetycznie bakteriofagi, które wykazały wystarczająco silne działanie bójcze wobec patogennych dla ryb bakterii, zostały użyte do dalszych badań eksperymentalnych. Opracowano preparat bakteriofagowy, który nazwano „Bafador-1”.

Wstępne wyniki badań jednoznacznie wykazały, że preparat bakteriofagowy Bafador-1, podawany w iniekcji dootrzewnowej oraz immersji, jest dobrze tolerowany przez organizm ryb oraz wykazuje działanie ograniczające śnięcia po eksperymentalnych zakażeniach patogenną bakterią *A. hydrophila*. Uzyskane wyniki badań nad wpływem podania Bafadoru-1 w iniekcji oraz immersji na przebieg śnieć po eksperymentalnym zakażeniu patogenną bakterią *A. hydrophila* przedstawiono na rysunku 1. Stwierdzono, że podanie Bafadoru-1 zarówno w iniekcji, jak i immersji w znaczący sposób zmniejsza odsetek śnięć po zakażeniu eksperymentalnym, w porównaniu z grupą kontrolną, w której śnięcia wyniosły 75%. Najniższy odsetek śnięć obserwowano w grupach IV i V, gdzie ryby otrzymały preparat Bafador-1 12 godzin po zakażeniu, zarówno w iniekcji



Rys. 1. Efekt podania Bafadoru-1 w iniekcji oraz immersji na przebieg śnieć po zakażeniu eksperymentalnym pstrąga tęczowego patogenną bakterią *A. hydrophila* (n=20).

(10%) oraz immersji (15%). Wyniki tych badań sugerowały, że podanie preparatu Bafador w immersji, najmniej stresogennej formie podania leku dla ryb, jest wysoce skuteczną drogą aplikacji preparatu. W związku z powyższym podjęto badania nad wpływem preparatu Bafador-1 podawanego w immersji, w zróżnicowanym okresie, na przebieg śnięć po zakażeniu eksperymentalnym. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 2, które jednoznacznie sugerują, że Bafador-1 podany w immersji 12, 24 oraz 48 godzin po zakażeniu w znaczący sposób ogranicza śnięcia powodowane patogenną bakterią *A. hydrophila*, w porównaniu z grupą kontrolną (śmiertelność 85%). Najniższy odsetek śnięć obserwowano, gdy preparat Bafador-1 był podany po 12 godzinach (30%), a najwyższy po 48 godzinach (40%) od zakażenia.

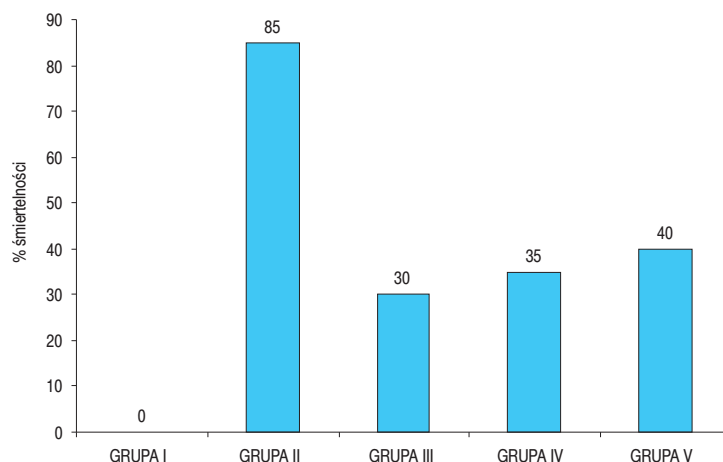
Wpływ różnych stężeń bakteriofagów w preparacie Bafador-1 na przebieg śnięć, po eksperymentalnych zakażeniach patogenną bakterią *A. hydrophila*, przedstawiono na rysunku 3. W dwóch użytych stężeniach bakteriofagów w preparacie Bafador-1 oraz zróżnicowanym czasie podania śmiertelność kształtowała się na poziomie 35-45%, w porównaniu z grupą kontrolną, gdzie notowano śnięcia na poziomie 80%. Istotnym elementem prezentowanych badań było wykazanie, że przyjęte dwa stężenia bakteriofagów w preparacie Bafador-1 nie miały istotnego wpływu na przebieg śnięć po eksperymentalnym zakażeniu, co jednoznacznie sugeruje, że stężenie bakteriofagów 1×10^8 PFU/ml w preparacie Bafador-1 można przyjąć za optymalne do stosowania w immersji.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że podjęte wstępne badania doświadczalne są nowatorskie i zawierają cenne informacje, wskazujące na wysoką skuteczność swoistych bakteriofagów w ograniczeniu śnięć, po zakażeniach eksperymentalnych patogenną bakterią. Na tym etapie badań można stwierdzić, że istotne ograniczenie śnięć spowodowane było silnym działaniem litycznym swoistych bakteriofagów wobec patogennych bakterii *A. hydrophila*, co zostało potwierdzone w badaniach *in vitro*. Wysoka skuteczność bójcza preparatu Bafador-1 jest argumentem do podjęcia dalszych ukierunkowanych badań nad możliwością stosowania bakteriofagów w profilaktyce i terapii chorób bakteryjnych ryb, szczególnie w intensywnych systemach chowu.

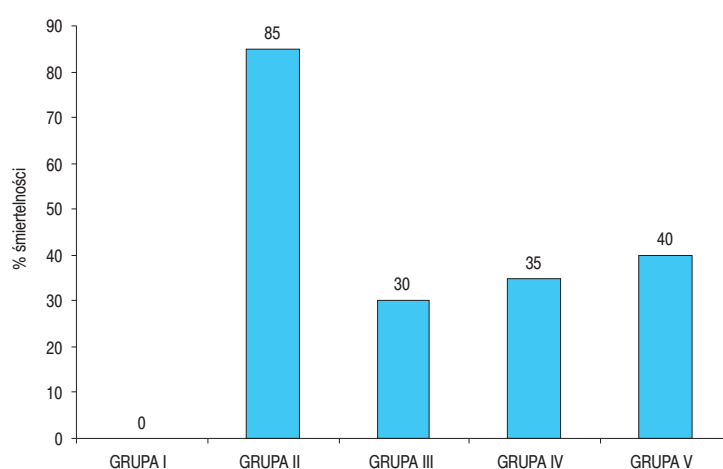
Badania finansowane z Projektu POIG.01.04.00-10-098/12

Literatura

Boyd E.F., Davis B.M., Hochhut B. 2001 – Bacteriophage-bacteriophage interactions in the evolution of pathogenic bacteria – Trends Microbiol. 9: 137-144.



Rys. 2. Wpływ preparatu Bafador-1 (1×10^8 PFU/ml) podawanego w immersji w różnych okresach (12, 24 oraz 48 godz.) na przebieg śnięć po eksperymentalnym zakażeniu pstrąga tęczowego patogenną bakterią *A. hydrophila* (n=20).



Rys. 3. Wpływ zróżnicowanych stężeń bakteriofagów w preparacie Bafador-1 (1×10^8 PFU/ml oraz 1×10^9 PFU/ml) podawanego w immersji w różnym okresie (12 i 48 godz.) na przebieg śnięć po zakażeniu eksperymentalnym pstrąga tęczowego patogenną bakterią *A. hydrophila* (n=20).

- Cerveny K.E., DePaola A., Duckworth D.H., Gulig P.A. 2002 – Phage therapy of local and systemic disease caused by *Vibrio vulnificus* in iron-dextran-treated mice – Infect. Immun. 70: 6251-6262.
- Dąbrowska K., Świtata-Jeleń K., Opolski A., Weber-Dąbrowska B., Górski A. 2005 – Bacteriophage penetration in vertebrates – J. Appl. Microbiol. 98: 7-13.
- Dias R.S., Eller M.R., Duarte V.S., Pereira A.L., Silva C.C., Mantovani H.C., De Paula S.O. 2013 – Use of phages against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis – J. Anim. Sci. 91: 3930-3939.
- Drulis-Kawa Z., Majkowska-Skrobek G., Maciejewska B., Delattre A.S., Lavigne R. 2012 – Learning from bacteriophages-advantages and limitations of phage and phage-encoded protein applications – Curr. Prot. Pept. Scien. 13: 699-700.
- Hanlon G.W. 2007 – Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections – Inter. J. Antimicrob. Ag. 30: 118-128.
- Kumari S., Harjai K., Chhibber S. 2009 – Bacteriophage treatment of burn wound infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* PAO in BALB/c mice – Am. J. Biomed. Sci. 1: 385-394.
- Kutateladze M., Adamia R. 2010 – Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics – Trends Biotechnol. 28: 591-595.
- Matsuzaki S., Rashed M., Uchiyama J., Sakurai S., Ujihara T., Kuroda M., Imai S. 2005 – Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases – J. Infect. Chemother. 11: 211-219.

- Merril C.R., Biswas B., Carlton R., Jensen N.C., Creed G.J., Zullo S., Adhya S. 1996 – Long-circulating bacteriophage as antibacterial agents – Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93: 3188-3192.
- Morrison S., Rainnie D.J. 2004 – Bacteriophage Therapy: An Alternative to Antibiotic Therapy in Aquaculture – Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 2532.
- Siwicki A.K., Morand M., Klein P. 1998 – Modulation of nonspecific defence mechanisms and protection against disease in fish – Acta Vet. Brno 67: 323-328.
- Siwicki A.K., Kazuń K., Lepa A., Kazuń B. 2011 – Influence of 1,3-1,6-D-glucan (Leiber Beta-S) in diets on the effectiveness of anti-Enteric Redmouth Disease (AquaVac ERM) vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) – Centr. Eur. J. Immunol. 36: 212-214.
- Skurnik M., Strauch E. 2006 – Phage therapy: facts and fiction – Int. J. Med. Microbiol. 296: 5-14.
- Wagenaar J. A., Van Bergen M. A., Mueller M. A., Wassenaar T. M., Carlton R. M. 2005 – Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers – Vet. Microbiol. 109: 275-283.

Przyjęto po recenzji 29.09.2014 r.

APPLICATION OF BACTERIOPHAGES IN TARGETED THERAPY OF BACTERIAL DISEASES IN FISH – AN EXPERIMENTAL STUDY

Andrzej K. Siwicki, Jarosław Dastych, Ewelina Wójcik, Patrycja Schulz, Edyta Kaczorek, Krzysztof Kazuń, Barbara Kazuń, Agnieszka Lepa, Elżbieta Terech-Majewska

ABSTRACT. The increasing resistance of bacteria to available antibiotics constitutes one of the greatest challenges in intensive fish culture. The growing problem of chemotherapeutic resistance has revived interest in the potential use of bacterial viruses (bacteriophages) for therapy of bacterial diseases in fish. Bacteriophages are viruses specific for bacterial strains and are natural regulators of bacterial populations in waters. In the present study, we determined the influence of specific bacteriophages on mortality percentages after experimental challenges with the pathogenic bacteria *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout. Healthy rainbow trout, weighing 50–100 g were used in the study. Bafador-1 with 1x10⁸ PFU/ml or 1x10⁹ PFU/ml concentrations of bacteriophages were used in immersion or injection at 12, 24, or 48 h after experimental infections. The results showed that Bafador-1 reduced mortality after application in immersion or injection at a concentration of 1 L/m³ of water, or 0.2 ml per fish. The three experimental studies presented indicated that Bafador-1 is very effective in reducing mortality after experimental infection with the pathogenic bacteria *A. hydrophila*. The preliminary study showed that specific bacteriophages are very effective in specific therapy of bacterial diseases in fish.

Keywords: rainbow trout, bacteriophages, *Aeromonas hydrophila*, mortality