

УДК 619:616.98

О. С. ГАЙДЕЙ, кандидат ветеринарних наук

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ

А. В. ЄВТУШЕНКО, кандидат ветеринарних наук

Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини НААН, м. Харків

О. М. ДЕРЯБІН

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

О. В. КРУШЕЛЬНИЦЬКА, пошукач

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З.Гжицького, м. Львів

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РЕФЕРЕНТНОГО ШТАМУ DN4p101 ТА ІЗОЛЯТУ PL-1 ВІРУСУ ГЕМОРАГІЧНОЇ СЕПТИЦЕМІЇ ФОРЕЛІ (ВГС)

Проведені дослідження з вивчення біологічних властивостей референтного штаму DN4p101 та ізоляту PL-1 вірусної геморагічної септицемії форелі (ВГС) та відтворення клінічних ознак захворювання.

Ключові слова: форель, вірусна геморагічна септицемія, біопроба, референтний штам, ізолят.

Вірусна геморагічна септицемія – гостре висококонтагіозне захворювання прісноводних та морських видів риб, що спричиняє вірус геморагічної септицемії — VHSV (Viral hemorrhagic septicemia virus) [1]. Вірусна геморагічна септицемія характеризується надзвичайно широкими межами поширення у світі та завдає значних економічних збитків рибним господарствам багатьох країн [2-5]. Наразі нараховують близько 50 прісноводних та морських видів риб, чутливих до даного захворювання.

Вірусна геморагічна септицемія повсюдно поширена на території континентальної Європи (особливо в Данії) [4]. У 2007 році згідно з офіційними даними МЄБ захворювання вперше зареєстровано у Фінляндії, Швеції, Норвегії, хоча раніше ці території вважались благополучними щодо ВГС [5]. Поширення збудника даного захворювання до берегів Північної Америки спричинило значну смертність великого ромбу в аквакультурах, а також тихоокеанського оселедця та сардин у прибережних водах Тихого океану [2]. Одним з останніх спалахів захворювання була епізоотія в районі Великих Озер США та Канади [3]. Крім того, збудника було виявлено у несправжнього палтуса або японської камбали (*Paralichthys olivaceus*) в Японії [1, 4]. Припускають можливість поширення інфекції до берегів Австралії, де захворюваність може сягнути величезних масштабів.

Метою роботи було вивчення біологічних властивостей референтного штаму DN4p101 та ізоляту PL-1 вірусної геморагічної септицемії форелі (ВГС) та відтворення клінічних ознак захворювання.

Матеріали і методи. Дослідження проводились на базі Інституту рибного господарства (ІРГ НААН) та лабораторії молекулярної біології Інституту ветеринарної медицини НААН. У дослідженнях використовували референтний штам вірусу геморагічної септицемії форелі DN4p101 та ізолят ВГС PL-1 (Пулави, Польща), надані Національним інститутом ветеринарії, м. Пулави (Польща).

Для проведення біопроби використовували клінічно здорову форель, привезену з рибогосподарства Рівненської області, віком 1 рік, вагою 35 г у кількості 30 особин: 10 риб для зараження референтним штамом ВГС DN4p101, 10 — ізолятом PL-1 (Пулава, Польща), 10 — контрольна група.

Попередньо рибу адаптували до штучних умов утримання в акваріумі. Потім робили пересадку у ванни, де й проводили інфікування та спостереження за рибою. Температура води становила (9–12) °С, насиченість киснем визначали оксиметром (PDO-820), вона становила 9,1–9,5 мг/дм³, що в процентному співвідношенні складає 80–82 %. Насиченість киснем забезпечували аератором (Hydor Argo 1).

Зараження форелі проводили інтраперитоніально культуральним референтним штамом ВГС DN4p101 та ізолятом PL-1, у дозі 0,1 см³ з титром 6,25 lg ТЦД₅₀/см³ та 6,5 lg ТЦД₅₀/см³. Спостереження за рибою проводили щоденно о 9.00 та 17.00 протягом 8 діб. У разі загибелі форелі проводили відбір зразків внутрішніх органів з подальшим дослідженням у чутливій перещеплюваній культурі клітин BF-2 та за допомогою ЗТ-ПЛР.

Результати досліджень. Спостереження за рибою починали з першої доби після зараження. Щодня вимірювали температуру води, яка коливалась у межах (9–13) °С, та насиченість киснем, яка становила (9,5–9,83) мг/дм³.

Клінічні ознаки у інфікованої риби розвивались дуже повільно. На другу і третю добу після зараження ніяких змін у поведінці та клінічному стані риби не спостерігали.

На 4-ту добу після інфікування у 20 % риб спостерігали зміну координації плавальних рухів та потемніння окремих ділянок поверхні тіла (рис. 1).

Спостереження продовжували за рибою ще впродовж 10 діб. На п'яту добу прояв клінічних ознак спостерігали у 50 % риб. На 14-ту добу 100 % риб мали порушення координації плавальних рухів та потемніння поверхні тіла. Загибелі не відмічали.

Під час розтину риби спостерігались наступні патологоанатомічні зміни: збільшення печінки та забарвлення її у темно-червоний колір, анемічність зябер з поодинокими крапковими крововиливами, нирки тонкі, червоного кольору з гладенькою поверхнею.

Зараження риби ізолятом ВГС PL-1 проводили по тій самій схемі, що й зараження референтним штамом. Титр інфекційності ізоляту становив 6,5 lg ТЦД₅₀/см³

Прояв клінічних ознак у трьох риб спостерігали на 4-ту добу після інфікування: потемніння тіла, екзофтальмія, що виникла внаслідок крововиливів під сітківкою ока та порушення координації плавальних рухів, що вказує на прояв нервової форми захворювання (рис. 1, 2).

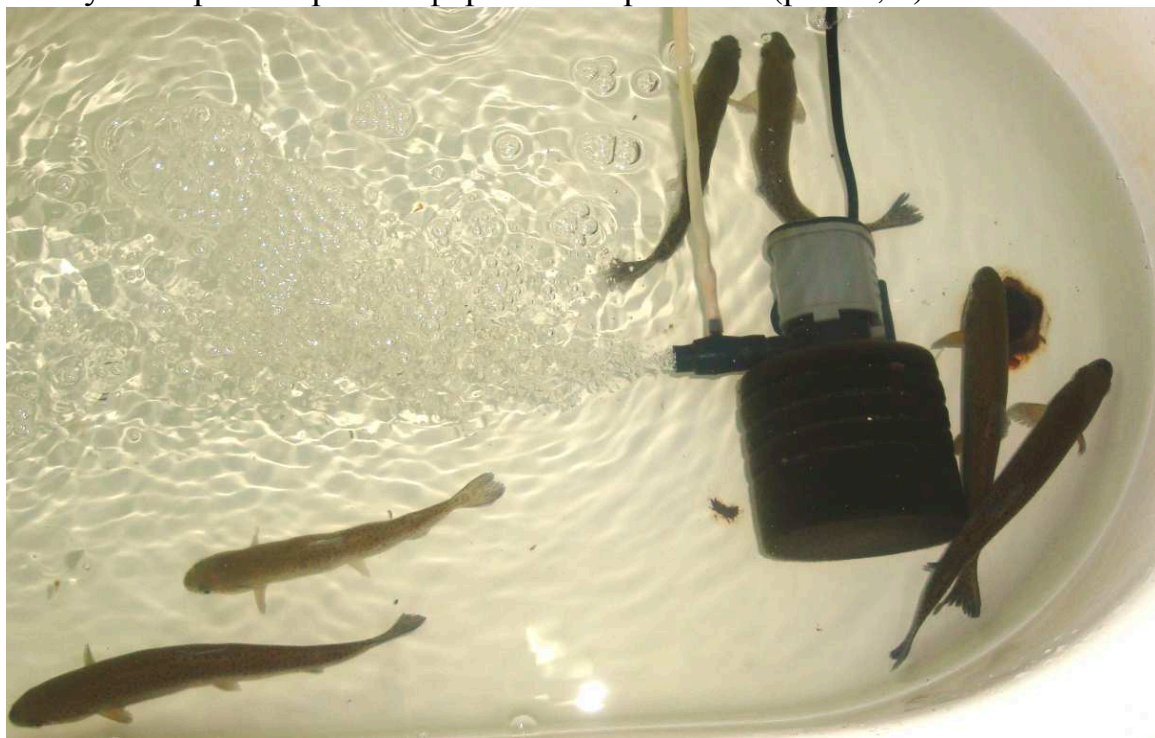


Рис. 1. Потемніння тіла та зміна координації плавальних рухів у форелі на 4-ту добу після зараження.



Рис. 2. Потемніння тіла та екзофтальмія у форелі на 4-ту добу після зараження

Крім того, клінічні прояви захворювання у цих риб супроводжувались абдомінальними асцитами, що пов'язано з акумуляцією біологічних рідин, у тому числі й крові.

На 5-ту добу відмічали прояв клінічних ознак ще у семи риб, на тілі яких з'явилися невеликі геморагії біля основи плавців. На 6-ту добу після зараження загинуло чотири риби з характерними для ВГС клінічними ознаками: потемнінням поверхні тіла та екзофтальмією (рис. 3).

На сьому добу загинула вся риба (рис. 3). Після розтину встановили наступні патологоанатомічні зміни: крововиливи біля основи плавців, анемічність зябер з крапковими крововиливами (рис. 4), здуття черевної порожнини (рис. 5), крововиливи на внутрішній стороні черевної порожнини, дещо збільшену та бліду печінку, крововиливи на кишечнику (рис. 6).



Рис. 3. Загибель форелі на 6-ту добу після зараження.



Рис. 4. Анемічність зябер з крапковими крововиливами, крововиливи біля основи плавників (7-ма доба після зараження).



Рис. 5. Здуття черевної порожнини у форелі на 7-му добу після інфікування.

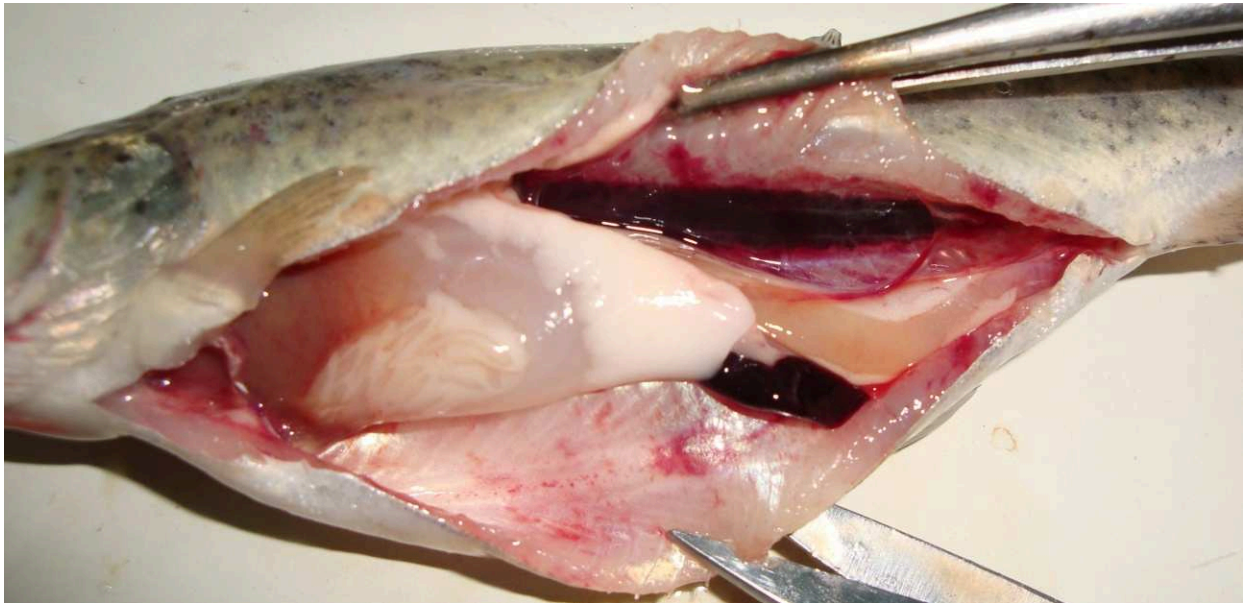


Рис. 6. Крововиливи на внутрішній стороні черевної порожнини та на кишечнику, некроз нирок у форелі на 6-ту доба після зараження.

Прояв клінічних ознак супроводжувався тотальними некрозами нирок, кров'яними асцитами навколо органів черевної порожнини та набряків м'язів, підшкірних крововиливів по всьому тілу і, особливо, в основі плавців, одно- чи двосторонньої екзофтальмії (див. рис. 2, 5, 6).

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що інфікування форелі референтним штамом ВГС DH4p101 не викликало повного прояву клінічних ознак і загибелі риби. Референтний штам ВГС викликав у культурі клітин цитопатичну дію, проте виявився слабопатогенним, що можна пояснити його тривалим пасажуванням у чутливих культурах клітин.

При вивченні біологічних властивостей ізоляту ВГС PL-1 встановили, що ізолят — високопатогенний, оскільки викликає повний спектр клінічних ознак ВГС та загибель риби.

Даний ізолят PL-1 рекомендується для контрольного зараження риби з метою визначення імуногенності вакцин проти ВГС.

Список використаної літератури

1. *Jurgensen, P.* Egtved virus: The susceptibility of brown trout and rainbow trout to eight virus isolates and the significance of the findings for VHS control [Text] / P. Jurgensen // *Fish Diseases : third COPRAQ-session* / Ed. W. Ahne. — Berlin ; New York : Springer-Verlag, 1980. — P. 124.
2. *Brown, L. L.* Viral hemorrhagic septicemia [Text] / L. L. Brown, D. W. Bruno // *Diseases and disorders of finfish in cage culture*. — New York : CAB International, 2002. — P. 108–111.
3. *Acosta, F.* Kinetics of MX expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr in response to VHS-DNA vaccination [Text] / F. Acosta, A. Petrie, K. Lockhart // *Fish and shellfish immunol.* — 2005. — Vol. 18, № 1. — P. 81–90.

4. *Antychowicz, J.* Choroby i zatrucia ryb [Text] / J. Antychowicz. — Warszawa : Wydawnictwo SGGW, 2001. — P. 357.

5. *Ellis, A.* Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria [Text] / A. Ellis // Dev. and Comp. Immunol. — 2001. — Vol. 25. — P. 827–839.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РЕФЕРЕНТНОГО ШТАММА DH4p101 И ИЗОЛЯТА PL-1 ВИРУСА ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ ФОРЕЛИ (ВГС) / О. С. Гайдей, А. В. Евтушенко, О. Н. Дерябин, О. В. Крушельницкая

Проведены исследования по изучению биологических свойств референтного штамма DH4p101 и изолята PL 1 вирусной геморрагической септицемии форели (ВГС) и воспроизведены клинические признаки заболевания.

Ключевые слова: форель, вирусная геморрагическая септицемия, биопроба, референтный штамм, изолят.

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF REFERENCE STRAINS DH4P101 AND ISOLATE PL-1 OF VIRAL HEMORRHAGIC SEPTICEMIA OF TROUT (VHS) / O .S. Gaidei, A. V. Yevtushenko, O. N. Deriabin, O. V. Kruchelnyska

Conducted a study on the biological properties of the reference strain DH4p101 and isolate PL-1 of viral haemorrhagic septicemia virus (VHS of trout) and reproduced clinical signs of the disease.

Keywords: trout, viral hemorrhagic septicemia, bioassay, the reference strain, the isolate.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук О. А. Тарасов

Рукопис надійшов 25. 07. 2013р