

вузликів у «товщі» паренхіми, більшість з яких мають центри розмноження, відмічається вже до кінця молочного періоду.

Сегменти паренхіми периферійних лімфоїдних органів ідентичні за будовою та являють собою сукупність окремих структурно-функціональних зон, що мають специфічну для кожної зони архітектуру ретикулярного остова, переважно кулеподібну просторову конфігурацію та мозаїчний характер розташування

#### Список літератури

1. Красников, Г.А. Применение иммуногистохимических методов исследования при изучении иммунитета животных [Текст] / Красников Г.А., Шутченко П.А., Бернедт А. // Матеріали III конф. всеукр. т-ва вет. патологів. — Х. : ХДЗВА, 2004. — ч. 1. — С. 35–38. 2. Лимфоидная система [Текст] // Иммунология / Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. — М. : Мир, 2000. — С. 44–57. 3. Sainte-Marie, G. The formation of “compartment relics” in the lymph nodes at athymic animals [Text] / Sainte-Marie G., Peng F.S. // Cell Tiss. Res. — 1987. — Vol. 248, № 2. — P. 323–333. 4. Выренков, Ю.Е. Компартмент — структурно-функциональная единица лимфатического узла [Текст] / Выренков Ю.Е., Шишло В.К., Антропова Ю.Г. // Пробл. клин. и эксперим. морфологии. — Новосибирск, 1992. — С. 40–42. 5. Гаврилин, П.Н. Модификация способа импрегнации серебром по Футу гистотопограмм органов кроветворения, изготовленных на микрометекриостате [Текст] // Вісн. морфології. — 1999. — Т. 5, № 1. — С. 106–108. 6. Горальський, Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології [Текст] : навч. посіб. — Житомир : Полісся, 2005. — 277 с.

### LAW-GOVERNED NATURES OF STRUCTURE-FUNCTIONAL SPECIALIZATION THE PARENCHYMA OF PERIPHERAL LYMPHOID ORGANS IN THE PRODUCTIVE MATURITY MAMMALS

Gavrilin P.N., Leshchova M.O.  
Dnipropetrovsk State Agrarian University

*Aim of work — to establish the law-governed of forming and age transforming of functional lymphoid zones and segments in parenchyma of bovine peripheral lymphoid organs. Material — lymphatic nodes (LN), spleen 2–9 monthly age fetuses and 1–120 days calves. Methods — authors' modification of silver impregnation of total frozen cuts. Results of researching — segmental structure of LN and spleen, identify of segments hystoarchitectonic, spherical different level space configuration of main T- and B-cellular zones, prenatal forming of segments and early germination of them definitive structure. Branch of using results — veterinary immunomorphology, morphological control of immune system status of animals in experiment. Conclusion: parenchyma of peripheral lymphoid organs of Bos domesticus has mosaic, not sliced structure type. Perspective of further researching — agreements of obtained results within applying of immunehistochemical researching.*

УДК 619:616-079.4:578.824

### ПРОБЛЕМИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ВІРУСНОЇ ГЕМОРАГІЧНОЇ СЕПТИЦЕМІЇ РАЙДУЖНОЇ ФОРЕЛІ

Гайдей О.<sup>1</sup>, Дудар Л.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів,  
м. Київ

Вірусна геморагічна септицемія (ВГС) — небезпечне висококонтагіозне захворювання, що уражає понад 50 видів морської та прісноводної риби в декількох частинах північної півкулі і завдає значних економічних збитків форелевим господарствам. Протікає за типом епізоотії та характеризується розвитком септичного процесу, множинними крововиливами в органи і тканини, екзофтальмією, асцитами та масовою загибеллю риби. Етіологічний агент, що викликає ВГС риби — РНК-вмісний вірус, що відноситься до роду Novirhabdovirus родини Rhabdoviridae. Згідно з класифікацією Міжнародного епізоотичного бюро ВГС відноситься до категорії особливо небезпечних хвороб риб.

<sup>1</sup> науковий керівник Головка А.М., академік УААН  
98

Уперше ВГСВ було ізольовано та доведена його роль як інфекційного агента вірусної геморагічної септицемії серед райдужної форелі у 1962 році Дженсоном у Данії, й отримав назву Egtved-вірус, на честь містечка Егтвед, поблизу якого було розташоване форелеве господарство, неблагополучне по ВГС [10].

Невдовзі даного збудника було зареєстровано і в багатьох інших європейських країнах: Австрії, Бельгії, Франції, Німеччині, Італії, Нідерландах, Польщі, країнах Прибалтики [9].

Зважаючи на складну епізоотологічну ситуацію у світі щодо даного захворювання, а також постійне ввезення живої риби та ікри з неблагополучних по ВГС країн є ймовірність появи даного захворювання і в Україні.

Вивчення збудника вірусної геморагічної септицемії та її діагностика має велике значення, оскільки дане захворювання може завдати великих збитків українським господарствам по розведенню райдужної форелі та інших промислово важливих видів риби. Високий рівень контагіозності та смертності риб за згаданого захворювання зумовлює необхідність розроблення та застосування експрес-методів діагностики з метою якнайшвидшої ідентифікації збудника у зразках ураженої риби та за провадження карантинних і профілактичних заходів.

Діагностика вірусної геморагічної септицемії проводиться комплексно з урахуванням епізоотологічних даних, клінічних і патологоанатомічних змін і обов'язково лабораторних досліджень [2]. Лабораторна діагностика ВГС базується на виділенні ізолятів вірусу, їх характеристикі, детекції вірусного антигену та виявленні вірусспецифічних антитіл. Особливе значення має діагностика хронічної та персистентної форм інфекції, викликаних слабовірулентними штамми, оскільки практично неможливо діагностувати захворювання за клінічною та патологоанатомічною картинами [14]. Наразі для діагностики ВГС застосовують реакцію віруснейтралізації, метод флуоресцентних антитіл (МФА), імуноферментний аналіз (ІФА), імунопероксидазний метод (ІПМ) та зворотньо-транскрипційну полімеразну ланцюгову реакцію (ЗТ-ПЛР). Крім того, діагностично-важливим є виділення збудника ВГС у культурах чутливих клітин [5, 7, 12, 13].

Метод імунофлуоресценції (МФА) має досить високу чутливість та специфічність, проте не дає можливості диференціювати антигени близькоспоріднених новірабдовірусів [8, 10].

Імуноферментний аналіз (ІФА) широко застосовується в усьому світі для діагностики інфекційних захворювань тварин. Наразі існує багато модифікацій даного методу і, як правило, для діагностики ВГС застосовують одну з модифікацій ІФА – DAS-ELISA (double-antibody sandwich type enzyme-linked immunosorbent assay), використовуючи моно- або поліклональні антитіла проти вірусного глікопротеїну, рідше – матриксного білку [3, 8].

Визначити наявність вірусу ВГС у патологічному матеріалі риби можна також за допомогою ізоляції вірусу в чутливих культурах клітин [5]. Для ізоляції ВВГС використовують наступні лінії культур клітин: EPC (епідермальні новоутворення коропа), Fhm (хвостове стебло товстоголова чорного (*Pimephales promelas*)), Iso (яєчники нестатевозрілого коропа), Ctf (хвостовий плавець коропа), Vf-2 (хвостове стебло синьозяберного сонячника (*Lepomis macrochirus*)), Chse-214 (ембріон чавичі (*Oncorhynchus tshawytscha*)), Rtg-2 (гонади райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss*)). Даний метод більш чутливий, ніж імунофлуоресцентний аналіз на заморожених зрізах органів риби, проте більш тривалий [9].

Застосування імунопероксидазного тесту, який передбачає використання чутливої лінії культур клітин та набору з трьох моноклональних антитіл, що кон'юговані або з пероксидазою хрому або з флуоресціюючим ізотіоціанатом, дозволяє специфічно виявляти штами ВВГС, а не близькоспоріднених представників новірабдовірусів. Це, в свою чергу, є головною перевагою ІПТ у порівнянні з іншими серологічними тестами [1, 4, 9].

Вищепераховані методи мають певні недоліки – використання великої кількості патологічного матеріалу, значна затрата часу на проведення досліджень, відсутність можливості диференціації вірусу від інших близькоспоріднених видів.

З розвитком молекулярної біології та генної інженерії був розроблений метод детекції інфекційних захворювань тварин на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ЗТ-ПЛР є найперспективнішим методом для діагностики ВГС при хронічному та персистентному перебігу та диференційної діагностики вірусу ВГС від інших збудників захворювань риб [6, 13]. За допомогою ЗТ-ПЛР генетичний матеріал вірусу ВГС можна виявити в інфікованій культурі клітин і в матеріалі від хворих і загиблих тварин за 5–6 годин, що характеризує даний метод як найшвидший серед усіх описаних методів лабораторної діагностики ВВГС. Важливою перевагою методу ПЛР у порівнянні з іншими діагностичними методами, є можливість диференціювання ВВГС від інших рабдовирусів, а також ідентифікація окремих ізолятів ВВГС за допомогою додаткового проведення рестрикційного аналізу ПЛР-продуктів, або ж за допомогою застосування множинної ПЛР з кількома праймерами одночасно, чи використання гніздових і напівгніздових праймерів [7, 11].

Аналіз ефективності методів діагностики ВГС вказує, що найперспективнішим методом для швидкої та диференційної діагностики вірусної геморагічної септицемії тест-системи є ПЛР. Застосування даного методу гарантує отримання адекватних результатів за найкоротший проміжок часу, що є важливим при широкому практичному використанні. Крім того, лише за допомогою даного методу можливою є детекція вірусоносійства ВГС, що необхідно для контролю за розповсюдженням захворювання. Враховуючи вищенаведене, в даний час нами проводяться дослідження, спрямовані на розробку відповідної ЗТ-ПЛР-тест-системи, яка базується на виявленні генів нуклеопротеїну та глікопротеїну ВВГС. Дана система буде використана для моніторингу вірусної геморагічної септицемії у форелевих господарствах України, що дасть змогу ефективно контролювати благополуччя цих господарств і попереджувати заніс збудника до них.

#### Список літератури

1. Bowden, T. A study of the susceptibility of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) to viral haemorrhagic septicemia virus isolated in turbot (*Scophthalmus maximus*) [Text] / Bowden T. // J. Fish Dis. — 2003. — Vol. 26. — P. 207–212.
2. Crane, M. Viruses of salmonids: virus isolation in fish cell lines [Electronic resource] / Crane M., Williams L. — 2001. — Режим доступа: [www.affa.gov.au/corporate\\_docs/publications/pdf/animalplanthealth/aquatic/virusisolation.pdf](http://www.affa.gov.au/corporate_docs/publications/pdf/animalplanthealth/aquatic/virusisolation.pdf)
3. Kinkelin, P. Viral hemorrhagic septicemia of rainbow trout: selection of a thermoresistant virus variant and comparison of polypeptide synthesis with the wild-type virus strain [Text] / Kinkelin P., Bearzotti-Le Berre M., Bernard J. // J. Virol. — 1980. — Vol. 36. — P. 652–658.
4. Dixon, P. Four years of monitoring for viral haemorrhagic septicaemia virus in marine waters around the United Kingdom [Text] / Dixon P., Avery S. // Diseases of Aquatic Organisms. — 2003. — Vol. 54. — P. 175–186.
5. Evolution of the fish rhabdovirus viral haemorrhagic septicaemia virus [Text] / Einer-Jensen K. [et al.] // J. General Virol. — 2004. — Vol. 85. — P. 1167–1179.
6. Einer-Jensen, K. Genotyping of the fish rhabdovirus, viral haemorrhagic septicaemia virus, by restriction fragment length polymorphisms [Text] / Einer-Jensen K., Winton J., Lorenzen N. // Vet. Microbiol. — 2005. — Vol. 106. — P. 167–178.
7. Elger, B. The kidney of rainbow trout in the acute phase of viral haemorrhagic septicemia: in vivo experiments on the renal excretion of fluid, electrolytes and protein [Text] / Elger B., Neukirch M., Hentschel H. // J. Fish Dis. — 1986. — Vol. 49. — P. 381–392.
8. Ellis, A. Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria [Text] / Ellis A. // Developmental and Comparative Immunology. — 2001. — Vol. 25. — P. 827–839.
9. Harmache, A. Bioluminescence imaging of live infected salmonids reveals that the fin bases are the major portal of entry for Novirhabdovirus [Text] / Harmache A., LeBerre M., Droineau S. // J. Virol. — 2006. — Vol. 80. — P. 3655–3659.
10. Fate of viral hemorrhagic septicemia virus in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) challenged by immersion [Text] / Iida H. [et al.] // Fish Pathol. — 2003. — Vol. 38. — P. 87–91.
11. 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] / Jurgensen P. // Fish Diseases: Third COPRAQ Session / Ahne W. (ed.). — Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1980. — P. 135–149.
12. Kurath, G., Winton, J. Viral hemorrhagic septicemia virus in the Great Lakes [Text] / Kurath G., Winton J. // J. Virol. — 2007. — Vol. 27. — P. 125–130.
13. Kurita, J. Virucidal effects of various disinfectants on viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) isolated from Japanese flounder [Text] / Kurita J., Iida Y., Nakajima K., Inoue K. // Fish Pathol. — 2002. — Vol. 37. — P. 175–181.
14. Liu, Z. Simultaneous detection of three fish rhabdoviruses using multiplex real-time quantitative RT-PCR [Text] / Liu Z., Zeng Y., Liu H. // J. Viral Methods. — 2008. — Vol. 149. — P. 1345–1357.

#### PROBLEMS OF LABORATORY DIAGNOSTICS OF RAINBOW TROUT VIRAL HEMORRHAGIC SEPTICEMIA

Gaydey O., Dudar L. State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv

*Methods of laboratory diagnostics of rainbow trout VIRAL hemorrhagic septicemia have been analyzed in the paper. The most prospective method is PCR.*