УДК 619:616.961.55.635.4

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ПСЕВДОМОНОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ З ДОПОМОГОЮ МЕТОДУ ФЛУОРЕСЦІЮЮЧИХ АНТИТІЛ

Мандигра М.С. *, Бойко П.К. **, Бойко О.П. *, Кучерявенко Р.О.***

** Інститут епізоотології НААН України, м. Київ*

*** ДУ «Волинська регіональна державна лабораторія ветеринарної медицини», м. Луцьк*

**** ННЦ «ІЕКВМ», м. Харків*

Діагностика псевдомонозної інфекції ґрунтується головним чином на виділенні та ідентифікації *Ps. aeruginosa* класичними бактеріологічними методами, які є довготривалими та не завжди ефективними [1, 2, 3].

У доступній нам літературі ми знайшли лише одну роботу, присвячену використанню методу флуоресціюючих антитіл (МФА) для серотипізації *Ps. aeruginosa* [4].

МФА застосовується у ветеринарній та медичній практиці для виявлення збудників ряду інфекційних захворювань, зокрема вірусних (грип, сказ, інфекційний ринотрахеїт) та бактеріальних (сибірка, бруцельоз, лістеріоз, сальмонельоз, бешиха тощо) [5, 6]. Метод – високочутливий, простий, не потребує виділення чистої культури збудника і не залежить від зміни тинкторіальних властивостей мікроорганізму. Тому МФА відносять до експрес-методів лабораторної діагностики інфекційних хвороб.

Мета роботи. Виготовити видоспецифічні високоактивні імунофлуоресцентні імуноглобуліни проти *Ps. aeruginosa* та вивчити можливість застосування їх у лабораторній діагностиці псевдомонозної інфекції тварин і птиці.

Матеріали і методи. Дана робота включала декілька етапів.

На першому етапі вивчали активність ОН- і О-антигенів *Ps. aeruginosa* в процесі імунізації тварин-донорів з допомогою реакції непрямої імунофлуоресценції (РНІФ) та реакції аглютинації (РА). Другий етап передбачав отримання видоспецифічних сироваток проти *Ps. Aeruginosa.* Третій – виготовлення мічених флуоресцеїну ізотіоціанатом (ФІТЦ) імуноглобулінів проти *Ps. aeruginosa*; четвертий – застосування МФА в ході бактеріологічного дослідження на псевдомоноз тварин і птиці.

Роботу проводили у бактеріологічному відділі Волинської регіональної державної лабораторії ветеринарної медицини (м. Луцьк), Інституті епізоотології НААН України (м. Рівне) та ННЦ «ІЕКВМ» (м. Харків).

Як тест-мікроорганізм використали виділений нами штам *Ps. aeruginosa* В-1.

Виготовлення антигенних препаратів та імунізацію тварин-донорів проводили за методикою П.К. Бойка (1982) [7]. Із 18-20-годинних культур *Ps. aeruginosa*, вирощених на м'ясо-пептонному агарі (МПА), готували одномільярдну суспензію на 0,85 %-ому розчині натрію хлориду. Одну частину цієї суспензії прогрівали на киплячій водяній бані протягом 1 год. (соматичний О-антиген). До другої додавали нейтральний формалін з розрахунку 0,2 % кінцевої концентрації формальдегіду та витримували в термостаті при 37 °С протягом 6 год. (комплексний джгутиково-соматичний ОН-антиген). Після вказаних обробок обидва препарати тричі відмивали центрифугуванням (5000 об/хв. – 15 хв.); в обох антигенних препаратах доводили концентрацію мікробних тіл до 2 млрд./см^3. Виготовлені антигени перевірили на стерильність та нешкідливість.

Як донорів використали бугаїв чорно-рябої породи віком 6-7 міс., по 5 тварин на кожний антигенний препарат. Антигени вводили внутрішньовенно у дозі 5; 10 і 15 см^3. У тварин-донорів вивчали рівні антитіл з допомогою РНІФ та РА [8].

Імунологічному аналізу піддавали сироватки, отримані від бугаїв (n=5), яких імунізували ОН-антигенами *Ps. aeruginosa*. Специфічність сироваток вивчали в РА та РНІФ з антигенами гомологічних та гетерологічних видів мікроорганізмів. Як гомологічні мікроорганізми використовували штам *Ps. aeruginosa* АТСС №2853 9(F) та ізоляти, виділені нами із проби замороженої сперми бугая, зі змиву з рани лапи собаки, від трупа курчати та із внутрішніх органів корова.

Як гетерологічні мікроорганізми використано такі види мікробів: 1) *Salmonella typhimurium* штам №371; 2) *Escherichia coli* штам АТСС 25922; 3) *Proteus vulgaris* штам НХ 19 №22; 4) *Enterobacter aerogenes* штам 10006.

Високої видоспецифічності антипсевдомонас-сироваток досягали адсорбуванням (виснаженням) їх бактерійною масою *Salmonella typhimurium* та *Escherichia coli* за методом Хоменка Н.А. [9], які виявили найвищу антигенну спорідненість в РА і РНІФ з антигенами *Ps. aeruginosa*.

Виділення глобулінової фракції проводили шляхом осадження насиченим розчином сульфату амонію, мічення їх – флуоресцеїну ізоціанатом ФІТЦ (фірма Sigma, США), очистку розчину глобулінів від іонів сульфату амонію та від не зв'язаного флуорохрому – на колонках із сефадексом (G-25) [10].

Вміст білка в глобуліновій фракції визначали спектрометрично [11].

Глобуліни із флуорохромом кон'югували за методом W.P. Olson [12].

Бактеріологічне дослідження матеріалів, що надходили в регіональну лабораторію ветеринарної медицини, проводили згідно з методичними рекомендаціями [2, 3, 8,10].

Статистичний аналіз даних виконували за допомогою редактора електронних таблиць Microsoft Excel [13].

Результати дослідження. Вивчення активності ОН- і О-антигенів *Ps. aeruginosa* в процесі імунізації ними тварин-донорів показало, що активність сироваток крові тварин у РНІФ та РА особливо зросла через 21 день після першого введення (рис. 1 і 2).

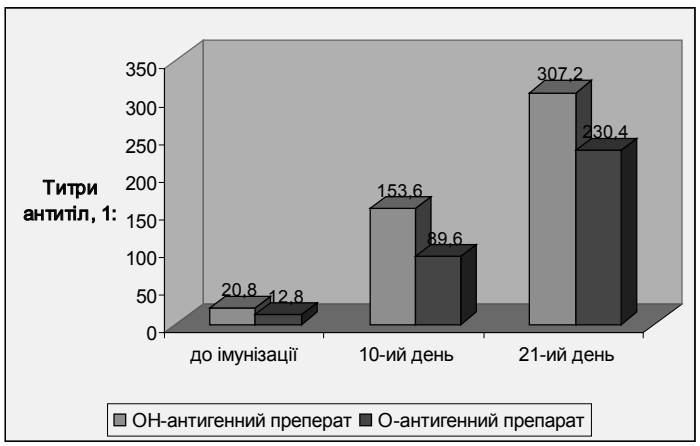

Рис. 1 Динаміка активності сироваток крові бугаїв у процесі їх імунізації ОН- та О-антигенними препаратами *Ps. aeruginosa* в реакції аглютинації (n=5; P<0,05).

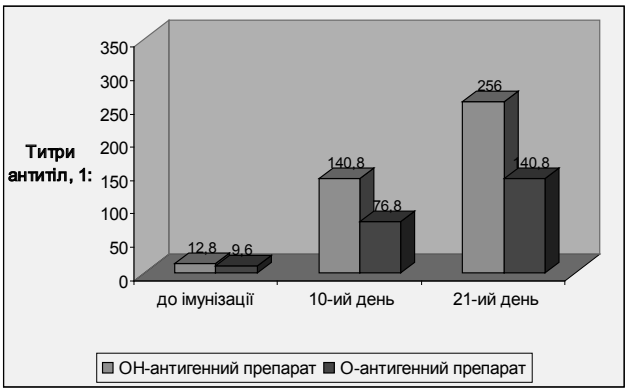

Рис. 2 Динаміка активності сироваток крові бугаїв у процесі їх імунізації ОН- та О-антигенними препаратами *Ps. aeruginosa* в реакції непрямої імунофлуоресценції (n=5; P<0,05)

Як видно із даних рис. 1 і 2, активність сироваток від тварин, імунізованих ОН-антигеном *Ps. aeruginosa*, є значно вищою, ніж у тварин, імунізованих О-антигеном. З іншого боку, слід відзначити, що рівні аглютинінів у крові тварин-донорів виявились вищими від рівнів антитіл, які виявляли з допомогою РНІФ.

Отримані нами дані свідчать, що обидва препарати проявили високу антигенну активність, проте комплексний джгутиково-соматичний антиген є більш активним порівняно із соматичним (на 33,3 % в РА і на 81,8 % у РНІФ). Наші дані узгоджуються з даними, отриманими Montie T.C. et al. (1982), Di Genaro M.S. (1999), Pier G.B. (2008) [14, 15, 16].

Аналізуючи дані обох діаграм, слід відзначити, що вихідні рівні антитіл проти *Ps. aeruginosa* у крові бугаїв є високими, що може бути свідченням постійної циркуляції збудника псевдомонозної інфекції на території молочнотоварної ферми, з одного боку, та ймовірність того, що в постнатальному віці дослідні тварин перехворіли на псевдомонозну інфекцію, з іншого. Отримані нами дані є підставою для подальших імунологічних та бактеріологічних досліджень псевдомонозної інфекції на молочнотоварних фермах, що дасть змогу встановити шляхи циркуляції її збудника та висвітлити ще невідомі закономірності прояву епізоотичного процесу цієї інфекції.

Отримані на першому етапі роботи антипсевдомонас ОН-сироватки були піддані імунологічному аналізу на специфічність з гомологічними та гетерологічними мікроорганізми (рис. 3).

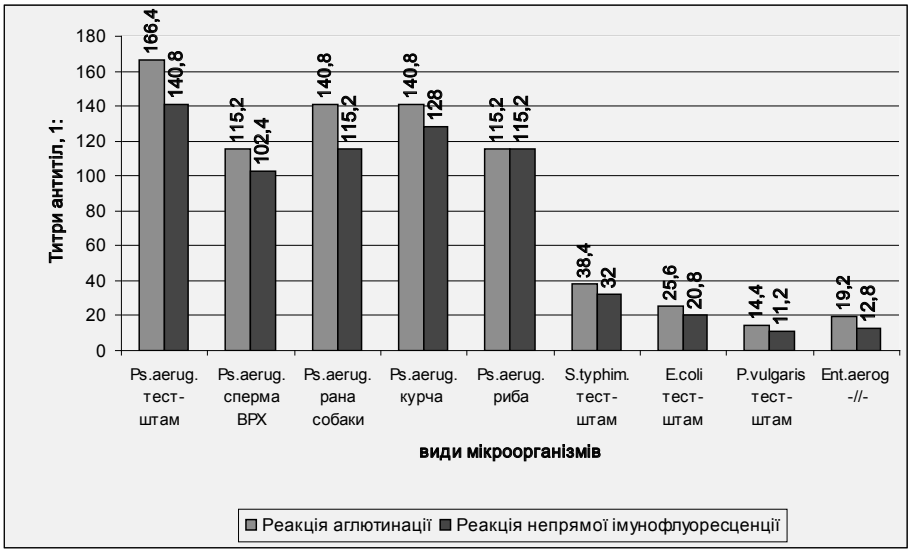

Рис. 3 Імунна активність бичачих антипсевдомонас сироваток (n=5) 3до гомологічних та гетерологічних видів мікроорганізмів

Аналіз даних рис. 3 вказує на те, що гомологічні штами *Ps. aeruginosa* показали високу спорідненість зі штамом, що був взятий для імунізації тварин-донорів антипсевдомонас сироваток. Так, найвища антигенна активність сироваток проявилася до тест-штаму *Ps. aeruginosa* АТСС №2853 9(F) (1:166,4±51,2 в РА і 1:140,8± 46,08 в РНІФ), висока – до ізолятів, виділених з рани собаки (1:140,8± 46,08 в РА і 1:115,2±61,44 в РНІФ) та із внутрішніх органів курчати (1:140,8±46,08 в РА і 1:128±51,2 в РНІФ). Це свідчить про те, що отримані бичачі антипсевдомонас сироватки мають високу видову специфічність до різних ізолятів *Ps. aeruginosa*, незалежно від біологічного джерела, з якого вони виділені.

Різниця в титрах антитіл у РА і у РНІФ вказує на певні антигенні відмінності між ізоляти з різних біологічних джерел.

В той же час виявлені антитіла до антигенів гетерологічних штамів, зокрема до *Sal. typhimurium* (титри 1:38,4±10,2 у РА та 1:32,0 у РНІФ), до *E. coli* (25,6±7,7 у РА та 20,8±8,9 у РНІФ), до *Ent. aerogenes* (19,2±5,12 у РА та12,8±3,84 у РНІФ) і до *P. vulgaris* (14,4±2,56 у РА та 11,2± 3,84 РНІФ) свідчать про наявність антигенної спорідненості у *Ps. aeruginosa* з цими видами мікроорганізмів.

Для забезпечення високої специфічності досліджуваних сироваток ми провели їх виснаження суспензіями антигенних препаратів, виготовлених із формалінізованих мікробних клітин *Sal. typhimurium* та *E. coli.* Після цього сироватки перевірили на специфічність у РА та РНІФ. Результати цих досліджень наведені на рис. 4.

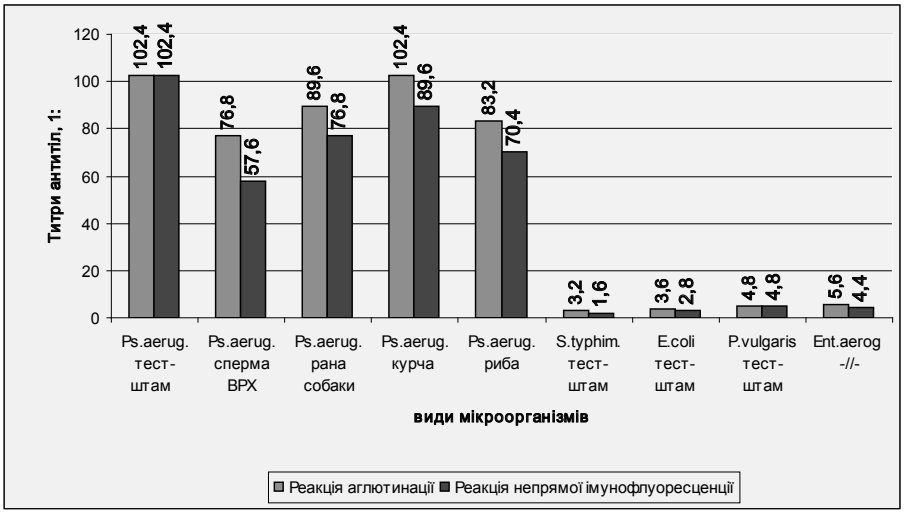

Рис. 4 Імунна активність бичачих антипсевдомонас сироваток (n=5) до гомологічних та гетерологічних видів мікроорганізмів після їх виснаження *Salmonella typhimurium* №371 і *Escherichia coli* ATCC 25922.

Як видно з даних рис. 4, активність сироваток щодо гетерологічних мікроорганізмів після дворазового виснаження знизилась до мінімальних рівнів: до *Sal. typhimurium* (титри 1:3,2±2,24 у РА та 1:1,6±0,64 у РНІФ), до E. coli (1:3,6±0,64 , у РА та 1:2,8±0,96 у РНІФ), тоді як до антигенів гомологічних штамів – неістотно. Одночасно зменшились і показники активності сироваток щодо *Pr. vulgaris* (титри 1:4,8±1,28 у РА та РНІФ)та *Ent. aerogenes* (титри 1:5,6±1,12 у РА та 1:4,4±1,44 у РНІФ).

Отже, адсорбцією сироваток антипсевдомонас антигенами гетерологічних мікроорганізмів, які виявили найвищу спорідненість з антигенними структурами *Ps. aeruginosa*, можна досягти їх високої видової специфічності.

На третьому етапі роботи з активних видоспецифічних антипсевдомонас сироваток виділено і очищено глобулінову фракцію, помічено її флюорохромом ФІТЦ. Таким чином було отримано діагностичний препарат «Мічені антипсевдомонас глобуліни». У процесі осадження та очистки глобулінів, мічення флюорохромом та очистки їх від вільного (незв'язаного) барвника активність мічених глобулінів помітно знизилася і становила 1:41,6±17,92.

Мічені видоспецифічні антипсевдомонас глобуліни були використані для прямої імунофлуоресцентної індикації та ідентифікації збудника синьогнійної інфекції в біологічному матеріалі, чистих та змішаних культурах, об'єктах довкілля паралельно із класичними бактеріологічними методами.

Четвертим етапом наших досліджень було практичне застосування МФА в лабораторній діагностиці псевдомонозної інфекції. На перших порах ми визначили чутливість цього методу в порівнянні із класичними бактеріологічними методами, зокрема світловим, культуральним (висів на кров'яний м'ясо-пептонний агар (КМПА) та біологічної проби (табл. 1).

Таблиця 1 – Порівняльні дані про чутливість імунофлуоресцентного, світлового, культурального та біологічного методів при індикації *Ps. aeruginosa* в чистих культурах

Метод дослідження	***Результати дослідження чистих суспензій з таким вмістом мікробних тіл Ps. aeruginosa* в 1 см³:**							
	10	***100***	***1 тис.***	***10 тис.***	***100 тис.***	***1 млн.***	***10 млн.***	***100 млн.***
Імунофлуоресцентний	–	+*	+**	+	+	+	+	+
Світловий (фарбування за ІЕМ)	–	–	–	+	+	+	+	+
Культуральний (висів на КМПА)	4/10	10/10	+	+	+	+	+	+
Біологічний (білі миші, ж.м. 18-20 г)	–	–	–	–	–	0/10	0/10	6/10

Примітка: ** – виявляли Ps. aeruginosa (одна мікробна паличка на 6–10 полів зору); ** – виявляли Ps. aeruginosa (одна мікробна паличка на 2–3 полів зору); Чисельник – кількість суспензій, у яких ідентифіковано Ps. aeruginosa; Знаменник – кількість взятих для досліду суспензій.*

Як видно з даних табл. 1, найчутливішим виявився культуральний метод, який дозволяв виділяти мікроорганізм у чистих суспензіях з концентрацією 10 м.т./см³. МФА в наших дослідах посів друге місце за чутливістю, виявляючи *Ps. aeruginosa* в препаратах із чистих суспензій мікроорганізму із концентрацією 1000 м.т./см³.

Нами вивчено чутливість імунофлуоресцентного методу при індикації *Ps. aeruginosa* в змішаних культурах з деякими мікроорганізмами родини *Enterobacteriaceae*, зокрема *E. coli*, *Sal. typhimurium*, *Ent. aerogenes* і *P. vulgaris*. Для цього із згаданих вище мікроорганізмів готовили вихідні суспензії 18-20-годинних агарових культур з концентрацією в них мікробних тіл 500 тис./см³. До 1 см³ цих суспензій додавали по 1 см³ суспензії 18-20-годинної агарової культури *Ps. aeruginosa* із спадаючими на один порядок концентраціями, починаючи із 500 тис./см³ (табл. 2).

Таблиця 2 – Порівняльні дані про чутливість імунофлуоресцентного методу при індикації *Ps. aeruginosa* в суспензіях змішаних культурах

Змішана суспензія культур Ps. aeruginosa і	***Результати дослідження змішаних суспензій з таким вмістом мікробних тіл Ps. aeruginosa в 1 см³:***				
	250 тис.	***25 тис.***	***2,5тис.***	***250***	***25***
*E. coli**	10/10	10/10	7/10	2/10	0/10
*Sal. typhimurium**	10/10	10/10	6/10	1/10	0/10
*Ent. aerogenes**	10/10	10/10	2/10	0/10	0/10
*P. vulgaris**	10/10	10/10	4/10	0/10	0/10

Примітка: ** – концентрація мікробних тіл становила 250 тис./см³ в кожній змішаній із Ps. aeruginosa суспензії;* ***Чисельник*** *– кількість суспензій, у яких ідентифіковано Ps. aeruginosa;* ***Знаменник*** *– кількість взятих в дослід суспензій.*

Як видно з наведених у табл. 2 даних, імунофлуоресцентний метод дає можливість ідентифікувати *Ps. aeruginosa* в змішаних культурах із концентрацією 2,5 тис/см³ при концентраціях гетерогенних мікроорганізмів, які у тисячу разів перевищують порогову кількість тест-мікрорганізму.

Отримані нами дані були підставою для паралельного застосування МФА в прямому варіанті при бактеріологічному дослідженні патологічного матеріалу від тварин та птиці, які хворіли на дисбактеріоз, шлунково-кишкові розлади, респіраторні хвороби. При цьому у всіх випадках комплексних досліджень патологічного матеріалу результати первинної імунофлуорес-центної індикації та ідентифікації збудника псевдомонозної інфекції були підтверджені класичними бактеріологічними методами (стовідсотковий збіг). Це стало підставою для побудови схеми бактеріологічного дослідження на псевдомоноз із застосуванням МФА (рис. 5).

Виробничі випробування імунофлуоресцентного діагностикуму для індикації та ідентифікації збудника псевдомонозу тварин і птиці продовжуються у бактеріологічних відділах ряду міжрайонних державних лабораторій Волинської області, де є люмінесцентні мікроскопи, та всіх регіональних державних лабораторій ветеринарної медицини.

Економічний ефект від впровадження імунофлуоресцентного методу для дослідження біологічного матеріалу на псевдомоноз становить 86,46 грн. на одну експертизу.

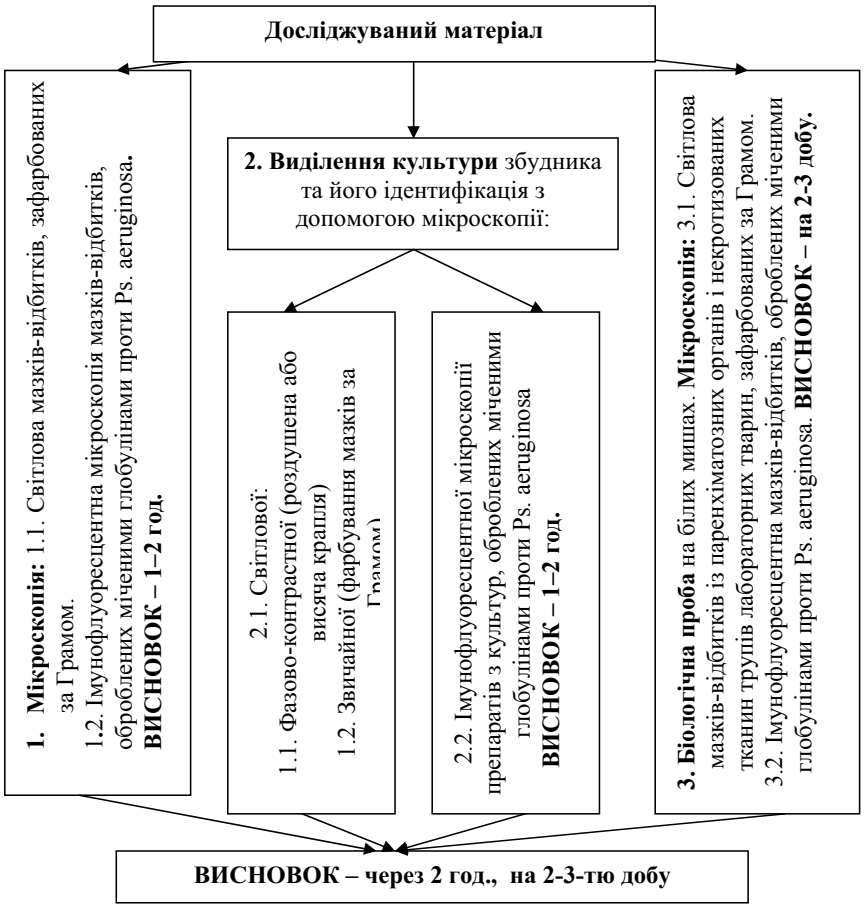

Рис. 5 Схема лабораторного дослідження на псевдомоноз з використанням методу флуоресціюючих антитіл

Висновки.

1. Імунізація тварин-донорів за схемою, що базується на внутрішньовенному введенні з триденним інтервалом антигену у різко зростаючих дозах, дозволяє отримати високоактивні сироватки проти антигенів мікробної клітини *Ps. aeruginosa.*

2. Реакція непрямої імунофлуоресценції може слугувати ефективним інструментом ретроспективних імунологічних досліджень.

3. Контроль активності імунних сироваток у процесі імунізації тварин-донорів можна ефективно здійснювати як в РА, так і в РНІФ.

4. Високоактивні сироватки антипсевдомонас проявляють помітну активність до антигенів гетерологічних видів мікроорганізмів.

5. Адсорбція сироваток суспензіями мікроорганізмів, які виявили найвищу спорідненість до *Ps. aeruginosa,* дозволяє отримати активні видоспецифічні антипсевдомонас сироватки.

6. Отримано високоактивні видоспецифічні мічені ФІТЦ антипсевдомонас глобуліни.

7. Імунофлуоресцентний метод є одним із найчутливіших методів індикації *Ps. aeruginosa* у чистих та змішаних культурах.

8. Прямий варіант МФА є ефективним та економічно вигідним методом лабораторної діагностики псевдомонозу тварин і птиці.

Список літератури

1. Псевдомоноз птиці. Методичні рекомендації / П.І. Вербицький, М.В.Косенко, І.К.Авдосьєва, І.Л. Мельничук, О.Б. Басараб, Г.А. Зон. та ін. – К.; 2000. – 16 с. **2.** Методические указания по лабораторным исследованиям на псевдомоноз животных и птиц / М.: Главк. ветеринарии, 1988. – 3 с. **3.** Методичні рекомендації по ізоляції і ідентифікації культур синьогнійної палички із сперми і статевих органів сільськогосподарських тварин / М.В. Косенко, І.К. Авдосьєва, М.С. Рожко, І.М. Кушнір, Л.Л. Островська . – К.: ДДВМ, 2001. – 12 с. **4.** Бекбергенов, Б.М. Индикация и серотипирование Ps. aeruginosa методом непрямой иммунофлуоресценции / Б.М. Бекбергенов, А.Г. Анциферов, А.Ф. Мороз, Н.С. Акатова, Н.Е. Смирнова // ЖМЭИ. – 1976. – №7. – С. 105-109. **5.** Бусыгин, Л.Ф. Люминесцентная диагностика инфекционных болезней животных / Л.Ф. Бусыгин – М.: Колос, 1975. – 159 с. **6.** Козловский, Е.В. Иммунофлуоресцентный метод дифференциации стрептококков / Е.В. Козловский, А.П. Дзюбак // Ветеринария. – 1972. – №12. – С. 94-96. **7.** Бойко, П.К. Иммунофлуоресцентная идентификация возбудителя эмфизематозного карбункула: автореф. дис. … канд. вет. наук / П.К. Бойко. – М.: МВА, 1982. – 23 с. **8.** Справочник специалиста ветеринарной лаборатории./ Н.В. Коротченко, Ю.П. Смиян, А.П. Адаменко и др. / Под ред. Ю.П. Смияна. – К.: Урожай, 1987. – 368 с. **9.** Хоменко, Н.А. Агглютинирующие сыворотки и диагностикумы. / В кн.: Руководство по микробиологической клинике и эпидемиологии инфекционных болезней. / Под ред. Проф. Г.В. Выгодчикова. – М.: Медицина, 1964. – С. 594-605. **10.** Виготовлення діагностикуму для імунофлуоресцентної індикації та ідентифікації *Pseudomonas* aeruginosa: Методичні рекомендації для спеціалістів ветеринарної медицини, науковців та студентів / О.П. Бойко, Р.О. Кучерявенко, П.К. Бойко, В.О. Бусол, М.С. Мандигра. – Київ: НУБіП, 2010.– 20 с. **11.** Методичні вказівки щодо використання методів біохімічних досліджень біологічного матеріалу в державних лабораторіях ветеринарної медицини при діагностиці захворювань неінфекційної патології. – К.: НАУ, 2000. – С. 2-10. **12.** Olson, W.P. Maximal brightness and fluorescent antibody. / W.P. Olson – J. Bacteriology. – 1968. – Vol.95. – P. 1176-1177. **13.** Лапач, С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В.Чубенко, П.Н.Бабич. – К.: Морион, 2001. – 319 с. **14.** Montie, T.C. Loss of virulence associated with absence of flagellum in an isogenic mutant of Pseudomonas aeruginosa in burned-mouse model /T.C. Montie, D. Doyle-Huntxinger, R.C. Craven, I.A. Holder // Infect. Immun. – 1982. – N 38. – P. 1296-1298. **15.** Di Genaro, M.S. Clostridium chauvoei: Immunological characterization of antigenic Preparations / M.S. Di Genaro, B. Micalizzi, A. M.Guzman. // Anaerobe -1999. – Vol.5. – P. 301-303. **16.** Pier, G.B. Promises and pitfalls of Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharide as a vaccine antigen. / G.B. Pier // Carbohyd Res. – 2003. – C. 338.

LABORATORY DIAGNOSTIC OF THE PSEVDOMONAS INFECTIONS BY IMMNOFLUORESCENCE METHOD

Mandygra M.S.*, Boyko P.K.**, Boyko O.P.*, Kucheryavenko R.O.***

**Institute of epizootology of NAAS of Ukraine, Kyiv,*

***Volyn Regional State Laboratory of Veterinary Medicine, Lutsk,*

****NSC "IECVM", Kharkiv*

For the first time in Ukraine it is developed the immunofluorescent method of indication and identification of Pseudomonas aeruginosa. This test considerably increases the effectiveness of laboratory diagnostics pseudomonosis in all forms of his manifestation, reduces time and supplies to conducting of bacteriological studies, it is the effective tool of the study of the Ps. aeruginosa's ecology.

УДК 591.2.597

ВИКОРИСТАННЯ ПЕРЕЩЕПЛЮВАЛЬНИХ КУЛЬТУР КЛІТИН В ІХТІОВІРУСОЛОЇ

Матвієнко Н.М., Харкавлюк Н.Є.

Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

Метод культивування культур клітин поза організмом став великим досягненням для вірусології, оскільки дозволяє отримувати найбільш об'єктивні та надійні дані щодо діагностики вірусних інфекцій. З виникненням гострих епізоотій серед коропових і лососевих видів риб, з'явилась необхідність удосконалення методів діагностики, заснованих на використанні як первинних, так і перещеплювальних культур клітин [1]. Відомо, що найбільших збитків рибництву завдають такі основні вірусні захворювання, як весняна віремія коропа, інфекційний некроз підшлункової залози та геморагічна септицемія. У зв'язку з цим, виникла необхідність швидкої ідентифікації та виділення збудників, а також розробка антивірусних препаратів на основі отриманих даних про збудника. Весняна віремія коропа належить до особливо небезпечних хвороб риб за класифікацією Міжнародного епізоотичного бюро. Це гостропротікаюча вірусна хвороба коропа, що характеризується розвитком септичного процесу й масовою загибеллю риб. Захворювання викликається вірусом весняної віремії коропа, що належить до родини *Rhabdoviridae* роду *Vesiculovirus* [2].

Вірусна геморагічна септицемія – це гостре висококонтагіозне захворювання прісноводних та морських видів лососевих риб, що викликає вірус вірусної геморагічної септицемії (VHSV), який належить до роду *Novirhabdovirus*, родини *Rhabdoviridae*. Хвороба протікає по типу епізоотії і характеризується розвитком септичного процесу, множинними крововиливами в органи і тканини та закінчується масовою загибеллю риби [3].

Інфекційний некроз підшлункової залози лососевих (IPNV) викликається вірусом із роду *Aquabirnavirus* родини *Birnaviridae* і характеризується порушенням координації руху, потемнінням шкірного покриву, ураженням підшлункової залози, появою точкових крововиливів на пілоричних придатках, значними патологічними змінами в печінці, селезінці та інших паренхіматозних органах, а також швидким розвитком і високою смертністю хворих риб [4].

Мета роботи: дослідити можливість використання перещеплюваних культур клітин з тканин різних видів риб та визначити можливість репродукції на них вірусів SVCV, IPNV, VHSV.