

ISSN 0233-6657



ИТОГИ НАУКИ И ТЕХНИКИ

ИХТИОЛОГИЯ

Том I

1985



Москва 1985

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО НАУКЕ И ТЕХНИКЕ

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

ВСЕСОЮЗНЫЙ ИНСТИТУТ НАУЧНОЙ И ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

ИТОГИ НАУКИ И ТЕХНИКИ

СЕРИЯ ИХТИОЛОГИЯ

Том 1

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ РЫБ

Серия издается с 1985 г.



МОСКВА 1985

Главный редактор информационных изданий ВИНТИ
профессор А. И. Михайлов

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ
информационных изданий по биологии

Главный редактор — чл.-корр. АН СССР А. А. Ничипорович
Члены редакционной коллегии: к. б. н. Л. Ф. Борисова
(ученый секретарь редколлегии),
чл.-корр. АН СССР Г. Г. Винберг, д. б. н. М. А. Каменская,
к. м. н. В. А. Кочукова, чл.-корр. АН СССР А. М. Кузин,
к. с.-х. н. Е. В. Ластовка,
акад. АМН СССР Г. В. Морозов, акад. Р. В. Петров, к. х. н. Е. В. Раменский,
проф. Г. А. Степанский, к. б. н. И. И. Стрекалова, к. м. н. В. Н. Тарасов,
к. в. н. О. А. Чайкина, к. б. н. И. П. Шамардина, к. м. н. В. И. Шахматов,
к. б. н. Э. М. Шмурова, д. м. н. А. И. Шнирельман

Научный редактор
член-корреспондент ВАСХНИЛ Г. Ф. Коромыслов

ПРЕДИСЛОВИЕ

Рыбы, моллюски и ракообразные составляют значительную часть рациона населения многих районов земного шара. В нашей стране рыбное хозяйство обеспечивает более 20% всего пищевого животного белка, производимого в стране. Прирост уловов в пресноводных водоемах предусматривается, в основном, за счет увеличения производства товарной рыбы прудовыми и другими рыбоводными хозяйствами. Однако, одной из причин, сдерживающих расширение аквакультуры, являются инфекционные болезни. Ликвидация или сведение к минимуму их отрицательного действия на конечные результаты выращивания рыб представляет собой важную задачу ихтиопатологии, решение которой позволит повысить продуктивность рыбоводных предприятий.

Настоящий сборник посвящен одной из актуальных проблем ихтиопатологии — инфекционным болезням рыб. В нем представлены данные последних лет, при этом приводятся материалы как о болезнях, встречающихся в нашей стране, так и о заболеваниях, которые не зарегистрированы, но существует опасность их заноса при импорте живой рыбы и икры.

Довольно подробно рассмотрены вирусные болезни рыб. Материалы о биохимической структуре и биологии вирусов представляют особый интерес, так как ранее в отечественной литературе не обобщались. Большое внимание уделено болезням, имеющим важное экономическое значение в рыбоводстве (вирусная геморрагическая септицемия, инфекционный некроз поджелудочной железы и инфекционный некроз гемопоэтической ткани лососевых, весенняя виремия (весенняя вирусная болезнь и др.). Излагаются также материалы о редко регистрируемых вирусах рыб и близких к ним микроорганизмах других классов. Критически проанализировала литература последних лет по бактериальным болезням рыб. Подробно рассмотрены такие довольно распространенные патогенные бактерии, как аэромонады, псевдомонады, вибрионы и миксобактерии.

Обзор по микозам, микотоксикозам и альговым болезням систематизирует сведения об этих заболеваниях, а также о

классификации грибов, выделяемых от рыб. Показано, что в последнее время повысился интерес к изучению глубоких микозов (ихтиофоз, микотический грануломатоз, эксофиаломикоз), а также микотоксикозов рыб. Обобщена литература по основным проблемам инфекционной патологии рыб. С современной точки зрения рассмотрены неспецифические факторы естественной резистентности и иммунологической реактивности организма рыб, характера их изменений под влиянием антропогенных воздействий.

Меры борьбы с наиболее опасными заразными болезнями рыб регламентируются Зоосанитарным кодексом Международного эпизоотического бюро (МЭБ), который является руководством для деятельности ветеринарных служб стран в отношении профилактики и борьбы с болезнями животных. В 1977 г. ФАО и МЭБ объединили свои усилия по созыву нового межправительственного консультативного совещания, в результате которого были переработаны параграфы и приложения Кодекса, посвященные болезням рыб. На 51-й Генеральной сессии МЭБ, состоявшейся в мае 1983 г., некоторые положения в отношении болезней рыб были уточнены, и в настоящее время в Кодексе рассматриваются такие заболевания, как вирусная геморрагическая септицемия, инфекционный некроз поджелудочной железы, инфекционный некроз гемопоэтической ткани, фурункулез и миксомоз лососевых рыб, а также весенняя виремия карпа. В Кодексе рекомендованы методы диагностики этих болезней. Наряду с рыбой учитываются результаты исследования икры и личинок рыб.

В Международном эпизоотическом бюро имеется специализированная Комиссия по болезням рыб, которая ежегодно рассматривает новые вопросы диагностики, профилактики и борьбы с инфекционными болезнями рыб. В настоящее время меры борьбы с болезнями рыб основаны на зоотехнических методах (улучшение гигиены и повышение генетической устойчивости рыб), на ветеринарно-санитарной профилактике, а также на применении лекарственной терапии.

В 1984 г. по инициативе Комиссии МЭБ был проведен симпозиум по вакцинации при болезнях рыб. На этом симпозиуме отмечено, что в последнее время стали активно разрабатываться методы и средства иммунопрофилактики болезней рыб. Показано, что иммунизация рыб возможна не только традиционным способом парентерального введения вакцин, но также оральным методом, прямой и гиперосмотической инфльтрацией и обрызгиванием. Положительные практические результаты полу-

чены при вакцинопрофилактике вибриоза рыб, фурункулеза лососевых и кишечной болезни "красный рот". Изучается возможность одновременной вакцинации рыб разными вакцинами. Следовательно, иммунопрофилактика болезней рыб заслуживает того, чтобы рекомендовать ее для практического использования в борьбе с некоторыми инфекциями.

Устойчивое благополучие по инфекционным болезням является неременным условием интенсификации рыбоводства. Это возможно при постоянном совершенствовании существующих и разработке новых научно обоснованных методов профилактики и борьбы с болезнями рыб. В свете этого данный сборник окажется полезным для ветеринарных врачей и ихтиопатологов, рыбоводов и ихтиологов.

Член корреспондент ВАСХНИЛ Г.Ф. Коромыслов

ВИРУСЫ И ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ РЫБ

Н.И. Рудиков

ВВЕДЕНИЕ

Достижения в изучении вирусов и вирусных болезней рыб обусловлены развитием методов выращивания культур тканей и клеток рыб. Первое применение тканевых культур в вирусологическом исследовании рыб провела L.Grützner [293]. Она использовала эксплантаты тканей гуппи (*Lebistes reticulatus*) и макропода (*Macropodus opercularis*). Одновременно K.Wolf и C.E.Dunbar (1957) разрабатывали методику приготовления эксплантатов тканей радужной форели, кумжи и палии.

Первично трипсинизированные однослойные культуры клеток рыб появились позднее [294]. Важную работу по выяснению оптимальных условий приготовления таких культур провели K.Wolf а.о. [295], которые установили, что наибольшую потенцию роста *in vitro* имеют клетки гонад (яичников) неполовозрелых рыб и что при приготовлении культур клеток из тканей пресноводных костистых рыб можно использовать растворы и среды, по своей изотоничности соответствующие растворам и средам, применяемым для клеток теплокровных животных. Другим источником клеток, обладающих высокой потенцией роста *in vitro*, являются эмбрионы рыб [296, 297, 298, 299 и др.].

В настоящее время накоплен значительный опыт культивирования клеток рыб в монослое, и он использован при разработке и создании перевиваемых культур клеток рыб. K.Wolf и M.C.Quimby [300] впервые сообщили о создании линии клеток из половых органов (гонад) неполовозрелой радужной форели.

Широко известного метода получения клеточных линий не существует, тем не менее E.J.Noga [301] предложил свою методику приготовления перевиваемых культур из тканевых фрагментов почек, гонад и печени рыб. Ее отличительной особенностью является рекомендация измельчать и промывать свежеснятые органы в среде, не содержащей ионов кальция и магния. После этого, по утверждению автора, 90% фрагментов

тканей прикрепляется к субстрату в течение нескольких секунд и через 36 ч начинается миграция клеток из эксплантатов. Сплошной монослой образуется через 1-2 нед. и его клетки удается пассировать 70 раз и более. Таким образом были разработаны линии клеток из жабр (G1B), почек (K1K) и гонад (GD11) американского сома (*Clarias batrachus*).

К середине 1984 г. существовало более 70 линий клеток рыб. В таблице, составленной K.Wolf и J.A.Mann [285] и дополненной нами, показано, что они получены из тканей 37 видов рыб или их гибридов, которые относятся к 17 семействам. Большинство этих линий происходит от пресноводных и анадромных рыб и лишь девять – от истинно морских рыб. Для получения перевиваемых культур использовали различные органы и ткани: неполовозрелые яичники (9 линий), семенники (3), почки и селезенку (по 2), сердце, гипофиз, плавательный пузырь, смесь внутренних органов, глазное яблоко и жабры (по 1), кожно-мышечную ткань (21), эмбрионы (12), личинок и мальков (6 линий). В нескольких случаях перевиваемые культуры клеток получены из новообразований: эритроформы (3 линии), саркомы (2), лимфосаркомы, гепатомы, нефробластомы и оспенной эпителиомы (по 1 линии). 18 линий имеют эпителиоподобную морфологию клеток, 39 линий – фибробластоподобную, а остальные представляют смешанные культуры.

Особый интерес представляет культура клеток SHSE -214 из эмбрионов чавычи. Ее клетки эпителиоподобного типа чувствительны к вирусам герпеса лососевых (*Herpesvirus salmonis*), инфекционного некроза гемопоэтической ткани, инфекционного некроза поджелудочной железы и вирусной геморрагической септицемии. Одна из линий этой перевиваемой культуры (SHSE -214) персистентно инфицирована вирусом инфекционного некроза поджелудочной железы, выделенным от щуки, и сохранила чувствительность лишь к возбудителю вирусной геморрагической септицемии. В связи с этой особенностью она считается самостоятельной клеточной линией [39].

Все перевиваемые культуры клеток, кроме линий клеток, происходящих от морских рыб, рекомендуется выращивать в разработанных для теплокровных животных питательных средах – основной и минимальной средах Игла, 199 и Лейбовича (L-15). В них обычно добавляют 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота, 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 50 ЕД/мл нистатина. Культуры выращивают в стационарных условиях и коэффициент пересева при этом составляет 1:2=1:3. Имеется лишь одно сообщение о суспензионной культуре перевиваемых линий клеток рыб [302].

Для ресуспендирования клеток при пересевах используют смесь 0,02%-ного раствора версена с 0,25%-ным раствором трипсина в соотношениях 6:4—9:1. Температура инкубации клеток зависит от происхождения клеточных культур. Для роста клеток холодноводных рыб требуется температура от 15 до 21°C, тепловодных рыб — от 22 до 30°C. Линия клеток из семенников (молок) карася SZGT-31 адаптирована к выращиванию при температуре 31°C, а линия SZGT-37 — при температуре 37°C.

В практической вирусологической работе ценным в культурах клеток является спектр чувствительности к различным вирусам. Не все линии клеток изучены достаточно полно в этом отношении, однако некоторые из них имеют довольно широкий спектр чувствительности. Так, в культуре клеток пимефала FHM реплицируются по крайней мере 5 вирусов рыб (инфекционного некроза поджелудочной железы, весенней виремии карпа, вирусной геморрагической септицемии, рабдовирусной болезни мальков щуки, инфекционного некроза гемопоэтической ткани) и 11 вирусов теплокровных животных. Культура клеток гонад радужной форели RTG-2 чувствительна к 6 вирусам рыб, а также к вирусам венесуэльского и восточного энцефаломиелитов лошадей и отека головастиков. Культура клеток из оспенных поражений карпа EPC также имеет довольно широкий спектр чувствительности, и в ней реплицируются вирусы весенней виремии карпов, вирусной геморрагической септицемии, рабдовирусной болезни мальков щуки, а также вирусы угрей и белого амура.

Вирусологические исследования рыб фактически начались после появления однослойных культур клеток рыбного происхождения. До этого в некоторых случаях предполагалась вирусная природа болезни, но только в 1960 г. [283] при инфекционном некрозе поджелудочной железы лососевых был впервые выделен вирус в культурах эксплантатов жабр, плавательного пузыря, селезенки, почек и хвостового плавника палии. В настоящее время известно около 20 вирусов и болезней, вирусная природа которых доказана несомненно. При ряде болезней в клетках рыб установлены вирусные структуры с помощью электронной микроскопии (оспа карпов, внутриэритроцитарный вирус радужной форели, саркома и эпидермальная гиперплазия стизостедии, саркома и лимфосаркома щуки, папиллома плевронекид, лимфосаркома щуки-маскинонга, фибросаркома и папиллома атлантического лосося, эпителиома американского коричневого сома и др.) [285]. Кроме того, на

основании косвенных или неполных исследований предполагалась вирусная природа таких болезней, как контагиозный стоматит (криоихтиозоз) харациновых рыб, воспаление плавательного пузыря у карпов, злокачественная анемия лососевых на рыбзаводах Азербайджана и язвенный некроз кожи лососевых.

Немногочисленные сообщения касаются болезней рыб, причиной которых являются другие, близкие к вирусам, группы микроорганизмов. M.Ozel и I.Schwanz-Pfitzner [195] в срезах органов радужной форели, больной вирусной геморрагической септиемией, обнаружили микроорганизмы, похожие по своей структуре на риккетсии. Их находили также в культуре клеток RTG-2, инфицированных экстрактами органов таких рыб. Что касается публикации Zaki-Mohamed [305] об обнаружении риккетсий в рыбе *Tetodon fahaka*, то она имеет сейчас лишь историческое значение.

G.L.Hoffmann а.о. [133] описали у ушастого окуня эпителиоцитис — гипертрофию эпителиальных клеток кожи и жабр, которая вызывается хламидиями (галыпровиями). Позднее это заболевание установили у двух видов морских окуней — мороне [303], морских лещей и других рыб [197, 304].

Значение вирусных болезней рыб неравнозначно. Лимфоцитис, например, отмечается у многих видов морских и пресноводных рыб, но из-за редкой встречаемости и несмертельности заболевания не имеет экономического значения. Лишь один раз был выделен вирус ушастого окуня [80]. В противоположность этому вирусная геморрагическая септиемия радужной форели, инфекционный некроз поджелудочной железы и инфекционный некроз гемопоэтической ткани лососевых рыб, весенняя вирусная болезнь (весенняя виремия карпов) и некоторые другие вирусные болезни являются весьма опасными, вызывая большую гибель рыб и причиняя значительный экономический ущерб.

В последние годы накопились новые материалы об ультраструктуре, биохимическом составе, антигенных свойствах вирусов рыб, а также о патологии, иммунологии и диагностике вирусных болезней. Кроме того, выявлены ранее неизвестные вирусные болезни рыб. В связи с этим возникла необходимость в обобщении этих данных, которые не всегда доступны заинтересованным специалистам — биологам, ихтиологам и ветеринарным врачам.

Перевиваемые культуры клеток рыб

№ п.п.	Семейство и вид рыб	Обозначение культуры	Ткань, из которой получена перевиваемая культура клеток	Морфология клеток в культуре	Температура инкубации (°C). Оптимум (пределы роста)
1	2	3	4	5	6

Anabaenidae

- | | | | | | |
|----|----------------------------------|----|----------------|---|------------|
| 1. | <i>Trichogaster trichopterus</i> | GP | Стебель хвоста | Э | 30 (15-39) |
|----|----------------------------------|----|----------------|---|------------|

Carangidae

- | | | | | | |
|----|--------------------|---|---------|---|------------|
| 2. | <i>Caranx mate</i> | - | Личинки | Ф | 27 (25-27) |
|----|--------------------|---|---------|---|------------|

Centrarchidae

- | | | | | | |
|----|----------------------------|------|----------------|---|------------|
| 3. | <i>Lepomis macrochirus</i> | BF-2 | Стебель хвоста | Ф | 25 (15-33) |
|----|----------------------------|------|----------------|---|------------|

- | | | | | | |
|----|---|------|--------------------------|---|------------|
| 4. | " | BF-W | Плавники, стебель хвоста | Ф | 25 (15-30) |
|----|---|------|--------------------------|---|------------|

- | | | | | | |
|----|------------------------------|-------|----------------|---|------------|
| 5. | <i>Micropterus salmoides</i> | LBF-2 | Стебель хвоста | Ф | 25 (15-33) |
|----|------------------------------|-------|----------------|---|------------|

Cichlidae

- | | | | | | |
|----|-----------------------------|----|----------------|---|------------|
| 6. | <i>Petrophyllum scalare</i> | AE | Глазное яблоко | ? | 30 (15-40) |
|----|-----------------------------|----|----------------|---|------------|

Clariidae

7.	<i>Clarias</i> <i>batrachus</i> :	G1B	Жабры	Э	25 (18-37)
8.	"	GD11	Гонады	С	25 (18-37)
9.	"	K1K	Почки	Ф	25 (18-37)

Clupeidae

10.	<i>Alosa</i> <i>sapidissima</i>	ASF-1	Стебель хвоста	Ф	15 (15-20)
-----	------------------------------------	-------	----------------	---	------------

Cyclopteridae

11.	<i>Cyclopterus lumpus</i>	-	Плавники	Ф	(18-20)
12.	- " -	-	Семенники	Ф	(18-20)

Cyprinidae

13	<i>Carassius auratus</i>	CAR	Плавники	Ф	25 (20-25)
14.	"	KGC-1	Плавники	Э	29 (25-32)
15.	"	KGL-1	Плавники	Э	29 (25-32)
16.	"	-	Эритрофорама	?	?
17.	"	-	Эритрофорама	?	?
18.	"	-	Эритрофорама	?	?
19.	"	SZGT-31	Семенники	Ф	31
20.	"	SZGT-37	Семенники	Ф	37

1	2	3	4	5	6
21.	"	CAF	Хвостовой плав- ник	Ф	(16-33).
22.	<i>Cyprinus carpio</i>	-	Эмбрионы	С	(15-37)
23.	"	KGCP-1	Плавники	Э	29 (25-32)
24.	"	ERC	Оспенные пораже- ния кожи	Э	(15-30)
25.	"	CaPi	Гипофиз	?	30 (15-35)
26.	"	MCT	Стебель хвоста	?	25
27.	<i>C. carpio</i> x x <i>C. auratus</i>	KGCF-1	Эпителий кожи	Э	29 (25-32)
28.	<i>Pimephales promelas</i>	FHM	Стебель хвоста	Э	24 (0-36)
29.	<i>Rhodeus ocellatus</i>	KGR-1	Плавники	Э	29 (25-32)
30.	<i>Tinca tinca</i>	TG	Яичники	Э	22-27 (4-32)
<u>Esocidae</u>					
31.	<i>Esox lucius</i>	NPF	Плавники	Ф	20-25 (4-25)
32.	"	PG	Гонады	Ф	20-22 (15-25)
33.	- " -	PS12	Саркоматозная опухоль	Ф	18

34.	<i>Esox masquinongy</i>	TCH 597	Лимфосаркоматоз- ная ткань	?	?
	<u>Gadidae</u>				
35.	<i>Gadus morhua</i>	—	Гонады	Ф	15
	<u>Ictaluridae</u>				
36.	<i>Ictalurus nebulosus</i>	BB	Стебель хвоста	Э	25-30 (4-34)
37.	<i>Ictalurus punctatus</i>	CCO	Яичники	Ф	30 (20-30)
	<u>Percidae</u>				
38.	<i>Stizostedion vitreum</i>	WF	Эмбрионы	—	(4-25)
39.	"	WF-2	Мальки	Ф	15 (9-22)
40.	"	WO	Гонады	?	22 (10-30)
41.	"	WC-1	Саркома кожи	Ф	22 (10-30)
42.	"	We-2	Эмбрионы	?	22 (10-30)
	<u>Percichthyidae</u>				
43.	<i>Morone saxatilis</i>	SBF-1	Мальки	С	20 (15-20)
	<u>Poeciliidae</u>				
44.	<i>Gambusia affinis</i>	KGT-1	Эмбрионы	?	29 (25-32)
45.	<i>Poecilia reticulata</i>	GE-4	Эмбрионы	Ф	22 (?-28)
46.	<i>Xiphophorus helleri</i>	SWT	Эмбрионы	Э	30

1	2	3	4	5	6
47.	<i>Xiphophorus maculatus</i> <u>Pomadasyidae</u>	XH-A1	Эмбрионы	Ф	25
48.	<i>Haemulon sciurus</i> <u>Salmonidae</u>	GF-1	Плавники	Ф	21 (15-25)
49.	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	CSE-119	Эмбрионы	Ф	21 (4-27)
50.	<i>Oncorhynchus masou</i>	YNK	Почки	Ф	(4-29)
51.	<i>Oncorhynchus nerka</i>	SSE-5	Эмбрионы	Э	20 (4-27)
52.	"	SSE-30	Эмбрионы	Э	21 (4-27)
53.	"	KF-1	Мальки	С	20 (10-20)
54.	<i>Oncorhynchus tschawytscha</i>	CHSE-114	Эмбрионы	Ф	21 (4-27)
55.	"	CHSE-214	Эмбрионы	Э	21 (4-27)
56.	"	SHSE-214	Эмбрионы	Э	21 (4-27)
57.	<i>Salmo gairdneri</i>	RBS	Селезенка	Ф	15-22 (9-22)
58.	"	RTF-1	Мальки	Ф	20 (4-26)
59.	"	RTH-149	Гепатома	Э	21 (4-27)

60.	"	RF-28	Гонады	Ф	20 (15-25)
61.	"	RTG-2	Гонады	Ф	20 (4-26)
62.	"	RTO	Гонады	Ф	(18-24)
63.	"	RTN	Нефробластома	С	20 (10-25)
64.	"	RTE	Эмбрионы	?	(15-20)
65.	"	STE-137	Эмбрионы	Э	21 (4-23)
66.	<i>Salmo salar</i>	AS	Ткани сердца, печени, почек, селезенки	Ф	20 (4-28)
67.	"	ASE	Эмбрионы	Ф	20 (15-25)
68.	"	ASH	Сердце	Ф	20 (15-25)
69.	"	ASO	Яичники	Ф	20 (15-25)
70.	<i>Salmo trutta</i>	BTE	Эмбрионы	?	(15-20)
71.	"	BTG	Гонады	?	(15-20)
<u>Sciaenidae</u>					
72.	<i>Bairdiella chrysura</i>	SP-1	Плавательный пузырь	Ф	26-32 (18-32)
73.	—— " ——	SP-2	Селезенка	Ф	26-32 (18-32)
74.	<i>Cynoscion arenarius</i>	WTF	Плавники	Ф	27,5 (20-35)

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6
75.	<i>Cynoscion nebulosus</i>	STF	Плавники	Ф	27,5 (20-35)
76.	"	CYN	Мышцы	Ф	25-34 (18-36)
77.	<i>Micropogon undulatus</i>	CrF	Плавники	Ф	28 (18-35)
	<u>Sparidae</u>				
78.	<i>Archosargus probatocephalus</i>	SHE-1	Плавники	Ф	24-26 (18-32)

Примечание: Э - клетки эпителиоподобного типа; Ф - клетки фибробластоподобного типа; С - смешанный рост культур; ? - морфология клеточной культуры не определена.

1. Вирусная болезнь канального сома

Это острое заболевание канального сома (*Ictalurus punctatus*) известно в Южных штатах США и не регистрируется в других странах. Вирусную этиологию болезни впервые установил N.Fijan [108], наблюдавший смешанную инфекцию с миксобактериозом.

Этиология. Возбудителем является герпесвирус размером 175–200 нм. Этот ДНК–геномный вирус имеет икосаэдрическую симметрию, в его капсиде насчитывают 162 капсомера. Реплицируется только в нескольких клеточных культурах близких видов рыб (первичная культура клеток канального сома, линии клеток ССО, ВВ, G1B, GD11 и K1K). Размножение вируса происходит при температуре от 10 до 35°C. Наиболее высокая скорость его репликации наблюдается при 35°C, но максимальное накопление – при 30°C [66]. Через 12 ч после заражения клеток ССО титр вируса был на 3,5 порядка выше, а ЦПД более выраженным, чем в линии клеток ВВ, но через 24 часа эти различия становились незначительными. ЦПД характеризуется образованием синцитиев с последующим разрушением слоя клеток [67].

Вирус наиболее стабилен в среде с pH 6,0–6,5. При ультрафиолетовом облучении (24 эрг/мм²/с) он полностью теряет свою инфекционность в течение 40 мин. При температурах 32, 27 и 15°C инактивируется, а при 4°C теряет 50% своей активности за 4 недели. При температуре –75°C сохраняется без потери инфекционности в течение одного года, а при –20°C – в течение 6 мес [224].

Возможна очистка вируса полиэтиленгликолем (ПЭГ–6000) и изопикническим центрифугированием в градиенте метризамида. В полосе вируса обнаруживают лишь 0,09% ДНК и 0,05% белка клеток, а вирусные частицы остаются в основном интактными [223].

Эпизоотология. Болезнь отмечается только у сеголеток канального сома массой до 10 г и редко – у 12-месячной рыбы массой 10–12 г. Развитие болезни и гибель рыбы зависят от температуры воды (30°C и выше), низкого содержания кислорода, скученности, неуместных сортировок, пересадок и т.п., а также от вторичных бактериальных инфекций. При 30°C и выше погибает 85–100% рыб, при 20–25°C болезнь протекает хронически, а при температуре ниже 15°C гибели рыб не наблюдаются.

Возможна передача возбудителя болезни через икру. Молодь может заболеть при совместном содержании с взрослыми рыбами, и от последних можно выделить вирус [206].

Кроме канального сома, экспериментально можно заразить синего (*I. furcatus*) и белого сома (*I. catus*). Так, молодь синего сома заболевает и гибнет после внутрибрюшинного введения $3,2 \times 10^{1,0} = 3,16 \times 10^{0,5}$ ТЦД₅₀ вируса [204].

Симптомы и патологоанатомические изменения. Больные сеголетки вялые, часто "стоят" в воде вверх головой, затем опускаются на дно и погибают. У них вздуто брюшко, выражена экзофтальмия, на теле и плавниках кровоизлияния разного размера. Жабры анемичные, бледные.

В брюшной полости находят жидкость соломенного цвета; кишечник пустой; печень и почки бледные или с пятнистыми кровоизлияниями. Все внутренние органы отекают.

Вирусная болезнь канального сома часто осложняется миксобактериозом, при котором развиваются такие же патологоанатомические изменения. Поэтому диагноз ставят на основании выделения вируса в клеточной культуре и результатов биологической пробы. Зараженные мальки канального сома погибают через 32 ч, и из них легко выделяется вирус, особенно из почек, где концентрация вируса может превышать 106,0 ТЦД₅₀/г ткани.

Для индикации вируса *in vitro* разработан метод флуоресцирующих антител [204].

Иммунитет. У переболевших рыб образуется иммунитет, в сыворотке крови циркулируют вируснейтрализующие антитела [174].

Путем многократных пассажей вирулентного штамма вируса канального сома в культуре клеток K1K получен аттенуированный вакцинный штамм, который образует мелкие бляшки (0,384 мм) и дает меньший сбор, чем вирулентный [192, 269], однако производственный выпуск вакцины не налажен.

С целью профилактики рекомендуется избегать пересадки и сортировки сеголеток во время жаркой погоды. Необходимо поддерживать температуру воды ниже 27°C, не вести интенсивное лотковое выращивание и не допускать скученное содержание рыбы на разных этапах рыбоводства.

2. Герпесвирусная болезнь лососевых

Герпесвирусная болезнь лососевых была впервые зарегистрирована на одной из рыбоводных ферм штата Вашингтон в

США. На этой ферме ряд лет отмечали гибель 30–50% производителей радужной форели после взятия икры, и выделили вирус (*Herpesvirus salmonis*) из овариальной жидкости рыб, который оказался возбудителем заболевания [281].

Подобный, если не аналогичный, вирус выделили в Японии от жилой симы (из овариальной жидкости и опухоли) и назвали его вирусом *Oncorhynchus masou* (OMV) [228].

Этиология. Возбудителем герпесвирусной болезни является ДНК-содержащий вирус из группы герпесвирусов. Морфологически он похож на *Herpes simplex* 2-го типа и на герпесвирусы Люке (лягушки) и канального сома.

Вирус размножается в культурах клеток лососевых (RTG-2, RTF-1, KF-1 и CHSE -214) и не реплицируется в линиях клеток непалососевых рыб (FHM, BF-2, BV и др.). Репликация вируса происходит при температуре 5 и 10°C. Адсорбция вируса клетками протекает медленно и ее максимум при 10°C наступает через 2 ч. Цитопатические изменения в культуре клеток RTG-2 развиваются также медленно. Вначале отмечается повышенная преломляемость света монослоем, через 24 ч появляются синцитии клеток, которые постепенно лизируются, и через 7 дней или позднее из монослоя остаются тяжи и группы клеток. В ядрах клеток регистрируют включения. Титр связанного с клеткой вируса может достигать 3×10^5 БОЕ/мл, а свободного вируса – 5×10^4 БОЕ/мл.

При температуре 0°C также формируются синцитии, но при пассажах отмечается постоянное снижение остаточной инфекционности вируса. При 15°C развитие вируса не постоянное, а при температуре 20°C оно полностью подавляется.

Электронно-микроскопически установлено, что через 36 ч после инокуляции культур вирус находится в одной из 100, а через 96 ч – в одной из 10 клеток. Он развивается в ядре, где нуклеокапсид гексагональной формы имеет диаметр 90–96 нм. Капсид собран из полых капсомеров, количество которых равно 162. Вблизи инфицированных ядер располагаются пучки электронно-плотных волокон различной длины. При выходе из ядра в цитоплазму и внеклеточно вирус приобретает наружную оболочку и имеет диаметр 150–240 нм, при этом капсид в вирионе расположен эксцентрично.

Вирус не устойчив к нагреванию, хлороформу, эфиру и в кислой среде, но при pH 10,0 сохраняет некоторую инфекционность. Он проходит через фильтры с диаметром пор 220, 300–450 нм, но полностью задерживается фильтром с порами 100 нм.

ДНК вируса имеет плавучую плотность $1,709 \text{ г/см}^3$, соотношение гуанина-цитозина составляет 50%. Он не агглютинирует эритроциты человека О-группы, кролика и радужной форели при температуре 40°C и $\text{pH } 7,0$.

Вирус хорошо сохраняется при температуре -80°C , но при 4°C теряет более 99,9% инфекционности в среде Игла-МЕМ без сыворотки за 3 нед. При замораживании-оттаивании его титр не падает [282].

Вирусы нерки, выделенные из овариальной жидкости и опухоли больных рыб, являются антигенно родственными, тогда как вирус радужной форели антигенно отличается от них. [149, 229].

Эпизоотология. Вирус и заболевание лососевых установлены только в США и Японии.

В США гибель в естественных условиях наблюдали среди производителей радужной форели. Экспериментально (парентерально) заражается 2,5-4-месячная радужная форель и остаются устойчивыми годовики нерки [288].

Выделенный в Японии вирус симы является патогенным для молоди лососевых рыб. При заражении месячных мальков лососей путем погружения на 1 ч в воду, содержащую $100 \text{ ТЦД}_{50}/\text{мл}$ вируса, и последующем выращивании при температуре $10-15^\circ\text{C}$, наибольшую чувствительность к вирусу проявляла нерка (100%-ная гибель после заражения), высокую чувствительность имели сима и кета (погибло 87 и 83% рыб соответственно) и менее восприимчивыми были кижуч и радужная форель (погибло 39 и 29% зараженных рыб) [263]. Восприимчивость кеты к вирусу связана с возрастом: гибель выклюнувшейся из икры молоди составила 35%, 1-5-месячной рыбы - более 80%, а 6-7-месячной - 7 и 2% соответственно. Мальки симы были наиболее восприимчивыми в месячном возрасте (кумулятивная смертность 87%), а среди 3-5-месячных мальков смертность снижалась с 65 до 24%.

В связи с выделением вируса из овариальной жидкости нерестующих рыб и неполовозрелых гонад молоди лососевых предполагается вертикальная передача инфекции [282]. Заражение здоровых рыб от больных при совместном содержании пока не наблюдали.

Течение, симптомы и патологоанатомические изменения. У производителей радужной форели и других лососевых клинические признаки заболевания не выражены.

При искусственном заражении молоди инкубационный период составляет 14-33 дня. У сеголеток радужной форели наблю-

дают выделение из анального отверстия тонких слизистых шнуров. Позднее у них развиваются экзофтальмия, вздутие брюшка. Рыба становится вялой, не питается, иногда лежит на дне бассейна на боку или спине, но реагирует на прикосновение быстрым, но кратковременным неустойчивым всплыванием. У части рыб наступает потемнение кожных покровов. Жабры бледные. Могут быть кровоизлияния в глаза. В периферической крови обнаруживают 10–13% незрелых эритроцитов и бласт-клетки неопределенного типа, а также макрофаги. Гематокрит падает до 12% против 40% у здоровых рыб [288].

При вскрытии отмечают большое количество асцитной жидкости, у некоторых рыб она студенистая. Все внутренние органы бледные, печень пятнистая, пищеварительный тракт обычно пустой.

Такие же клинические признаки и патологоанатомические изменения отмечаются у молоди лососей, зараженной вирусом симы.

Гистологически установили, что у молоди развивается генерализованная инфекция, с некрозами и отеками во внутренних органах, при этом первые и основные изменения отмечаются в почках.

Наступает распространенный некроз гемопоэтической ткани почек, который сопровождается высокими титрами вируса. Позднее отмечают гиперплазию гемопоэтической ткани. Фокусные некрозы регистрируются также в жабрах, печени, селезенке, сердце, мозге и поджелудочной железе больных рыб. В последней развиваются также синцитии клеток, что рассматривается как патогномоничный признак герпесвирусной инфекции. После длительного инкубационного периода у рыб наблюдают фокусы тяжелых некрозов в печени и краевое расположение хроматина в гепатоцитах. Кроме почек, вирус обнаруживают в печени, желудке и кишечнике [288].

У выживших после заражения вирусом симы рыб отмечают появление опухолей. В опытах, проведенных на симе, кижуче и кете, эпителиальные опухоли появлялись более, чем у 60% таких рыб через 130–250 дней после заражения. Они располагались на голове, но в одном случае также в почках. Дифференцированные эпителиальные клетки хорошо пролиферировали, и опухоли гистологически не отличались от папиллом, наблюдаемых в естественных условиях.

Электронно-микроскопически вирусные частицы не обнаруживали в опухолях, однако при первичном культивировании опухолевых клеток вновь выделяли вирус симы [149, 229].

Из изложенного видно, что возбудители герпесвирусной болезни лососевых являются неоднородными в антигенном отношении, а их патогенность для рыб разных видов и возрастов не одинакова. Представляет большой интерес онкогенная способность герпесвирусов, чего не находили у других вирусов, выделенных от рыб. Дальнейшие исследования позволят получить более подробные материалы о данной болезни и ее этиологии.

3. Герпесвирус стизостедииона

В мае 1979 г. при нерестовом ходе рыбы в реку из озера в провинции Саскачеван (Канада) был выловлен стизостедиион (*Stizostedion vitreum vitreum*) с гиперплазией эпидермиса. Приготовленный 2,5%-ный гомогенат гиперплазированной ткани исследовали в перевиваемой культуре клеток WO (из яичников стизостедииона), выращенной и инкубируемой при температуре 15°C. Выделенный цитопатический агент предварительно идентифицировали как *Herpesvirus vitreum* [144].

Изучены некоторые свойства этого вируса [143]. Его морфология и характер репликации соответствуют герпесвирусам. В эпидермальной ткани рыбы обнаруживали большие количества зрелых вирусных частиц, расположенных в межклеточных пространствах, тогда как в ядрах эпителиальных клеток находили многочисленные неполные капсидные частицы. По-видимому, наружную оболочку вирион приобретал на ядерной мембране. При контрастировании фосфорновольфрамовой кислотой капсид диаметром 100 нм имеет 162 капсомера. Он окружен несколькими темно окрашенными оболочками и расположен эксцентрично. Сферические формы вирионов имеют диаметр 190–230 нм.

Вирус реплицируется в культурах клеток стизостедииона WO, WC-1, WC-2 при температуре 15°C и не размножается в линиях клеток других рыб (RTG-2, BB, FHM). При температуре 20°C репликация вируса в культуре клеток WC-1 прекращается, но медленно продолжается при температуре 4°C.

После заражения культуры клеток WO и инкубации при 13°C экспонентная фаза репликации вируса отмечалась после латентного периода не менее 12 ч, а зернистость клеток наступала через 24 ч. Затем в монослое появлялись синцитии и после этого – разрушение ядерной оболочки и лизис клеток. Титр вируса не превышал $10^{6,0}$ БОЕ/мл. Синцитии формировались также в культуре клеток WC-1 при заражении методом бляшек.

Вирус стизостедииона чувствителен к эфиру, его развитие в культуре клеток подавляется бромдезоксинуридином, фосфон-

ацетатом (ингибитор ДНК-полимеразы) и антигерпетическим соединением ацикловиrom (9-(2-гидроксиэтоксиметил)гуанин). Инфекционность вируса остается стабильной после двух циклов замораживания-оттаивания, но исчезает при прогревании в течение 30 мин при температуре 56°C.

В соответствии с новой номенклатурой, Международная комиссия по таксономии вирусов обозначила данный вирус как герпесвируc-1 окуневых рыб. Необходимо дальнейшее изучение вируса, его патогенных и онкогенных свойств.

4. Лимфоистис

Лимфоистис (лимфоистоз)—вирусная болезнь морских и пресноводных рыб, характеризующаяся гипертрофией соединительно тканых клеток кожи и иногда — других тканей.

Эта болезнь наблюдается у многих видов рыб разных классов, протекает хронически и редко приводит к гибели рыб. Ее распространение повсеместное, но встречается у рыб редко. Является первой болезнью, у которой предполагали вирусную природу, но вирус впервые был выделен в культурах клеток и описан морфологически в 1966 г. [274, 284].

Этиология. Возбудителем лимфоистиса является иридовирус, имеющий икосаэдрическую симметрию. Его диаметр, в зависимости от вида рыб, колеблется от 199 до 300 нм. Он формируется в цитоплазме и имеет трехслойную оболочку. На оболочке вириона имеются поверхностные отростки длиной 17–21 нм, которые, как и наружное покрытие, содержат мукополисахариды. Кроме изометрических вирионов в клетках наблюдают трубчатые структуры [195].

Вирус, концентрированный ПЭГ-6000 и очищенный в градиенте метризамида, содержит 1,6% ДНК, 43,3% протеинов и 17,1% липидов, в основном — фосфолипидов. Полагают, что 39% остальных веществ вируса состоят в основном из сахаров [222].

Изолированная ДНК гетерогенна по размеру. При измерении длины 43 молекул ДНК получена средняя величина $49 \pm \pm 23$ мкм, что соответствует молекулярной массе $93 \pm 44 \times 10^6$ Д. Оценка молекулярной массы ДНК рестрикционным анализом дала величину $64,8 \times 10^6$ Д. ДНК вируса чувствительна к 5-экзонуклеазе фага лямбда и к 3-эндонуклеазе III *Escherichia coli*.

После денатурации-ренатурации ДНК формировались циркулярные молекулы ДНК средней длиной 34,25 мкм, что соответствует молекулярной массе $65,22 \times 10^6$ Д. Сделано за-

ключение, что ДНК вируса лимфоистиса содержит на обоих концах повторные последовательности и терминальную избыточность. Она не гибридизуется с ДНК вируса лягушки-3, что свидетельствует об отсутствии близкого родства этих иридовирусов [82, 83].

Структурные белки вируса, очищенного из папилломатозных поражений камбаловых рыб, представляют 33 полипептида с молекулярной массой от 14000 до 220000 Д. С вирусом лимфоистиса связана нуклеозид-трифосфат-фосфогидролазная активность, приводящая к гидролизу гамма-фосфатных остатков АТФ, и ГТФ, предпочтительно АТФ. Предполагается, что этот фермент расположен не на поверхности вирусной частицы [107]. При анализе в ДСН-ПААГ в составе вирионов, полученных в клеточной культуре BF -2, определено 22 отдельных полипептида с молекулярной массой от 30700 до 210000 Д [218].

Вирус реплицируется в культурах клеток BF-W, BF-2 и МСТ. Максимальная адсорбция вируса отмечается через 4-5 ч при температуре 25°C, а репликация происходит при температуре 15-25°C, и пик инфекционного вируса наступает через 14-18 дней инкубации ($10^{6,6}$ - $10^{6,8}$ ТЦД₅₀/мл). ЦПД проявляется в виде увеличения клеток монослоя до 50-70 мкм в диаметре, заметного через 7 дней после заражения и продолжающегося до 30 дней. Отмечается, что длительно культивируемые клетки теряют способность репродуцировать инфекционный вирус. Так, титр инфекционного вируса в линии BF-W резко снизился после первых 15 пересевов клеток [270]. В культуре клеток BF -2 образуется два типа вирусных частиц: мелкие и плотные диаметром 100-150 нм и стандартные вирионы, обладающие инфекционностью, диаметром 300-350 нм [217].

Вирус лимфоистиса чувствителен к эфиру и глицерину, снижает свой титр при pH 3,0, но не изменяет инфекционности при замораживании-оттаивании и ультразвуковой обработке в течение 30-90 с. Он быстро инактивируется при температуре 25°C, но его можно длительно ~~сохранять~~ при 4°C или -70°C [270].

Особенно длительно вирус лимфоистиса хранится в лиофилизированном или высушенном состоянии. Через 13 лет хранения при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ лиофилизированный вирус сохранил свою инфекционность на 4-32%, но препараты вируса, высушенные над P_2O_3 , лишь в одном случае были инфекционными через 15 лет хранения при 4°C [286].

Эпизоотология изучена недостаточно. Частота возникновения лимфоистиса обычно низкая, но иногда может быть значительной. Так, при исследовании робало (*Centropomus undecimalis*) размером 12–60 см из оз. Маракайбо (Венесуэла) лимфоистисные клетки установили у 35% выловленных рыб [266]. В ходе четырехлетних обследований в Осло-фьорде лимфоистис отмечали летом у 1–10% выловленной камбалы (*Platichthys flesus*), а зимой – до 57% [211]. На Хоккайдо максимальное количество случаев болезни среди культивируемых морских окуней (*Sebastes schlegeli*) отмечали в июле (37%) [263].

По-видимому, к заболеванию более восприимчивы молодые рыбы, так как на ушастых окунях установлено, что искусственно можно заразить лишь рыб длиной не более 6 см [270]. При искусственном выращивании морских карасей (*Sparus aurata*) в садках лимфоистис наблюдали у рыб, имевших ссадины и царапины кожи [198]. Отмечали связь между появлением болезни среди рыб благополучных озер с завозом стизостеидионов, среди которых ранее регистрировали лимфоистис [55].

Течение, клинические признаки и патологоанатомические изменения. Инкубационный период у зараженных подкожно ушастых окуней размером 5–6 см составляет 8–12 дней при температуре 25°C.

Больные рыбы выглядят так, как будто их посыпали манной крупой или мукой. Соединительнотканнные клетки кожи, жабр увеличиваются до 1 мм и более. Через покрывающий эпителий они выпячиваются в виде узелков или выступают между эпителиальными клетками и видны невооруженным глазом. Вокруг них отмечается слабая воспалительная реакция [2].

При слабом поражении наблюдают отдельные скопления гигантских клеток на плавниках и коже, а при сильном такие клетки могут сплошь покрывать большую часть поверхности тела. Иногда их находят также в глазах и внутренних органах. Каждая клетка имеет округлоовальную форму; увеличиваются ядро и ядрышко; появляются цитоплазматические включения, особенно по периферии клетки, а после этого – вакуоли и гиалиновая оболочка.

Гибели рыб от лимфоистиса, как правило, не наблюдают. Гигантские клетки разрушаются, и рыба может выздоравливать или вновь инфицируется. Поведение больных рыб практически не изменяется [267].

Диагноз ставят на основании клинических признаков, при этом следует исключить наличие эктопаразитов. Гистологи-

чески обнаруживают гиалиновую оболочку, увеличенное ядро, вакуоли и включения в цитоплазме гигантских клеток.

Дифференциальный диагноз. Следует иметь в виду существование другой болезни рыб, имеющей большое сходство с лимфоцистисом и названной эпителиоцистисом.

Эта болезнь впервые описана у ушастого окуня [131], а затем морского леща (*Sparus aurata*), кефалей (*Liza ramada*, *Mugil caphalus*), мороне (*Morone saxatilis*, *M. americanus*), тиляпии (*Tilapia mossambica*), карпа и других рыб. Она характеризуется появлением сильно гипертрофированных эпителиальных клеток главным образом на жабрах, а также на коже рыб. Одновременно увеличивается количество делящихся клеток в базальном слое кожи под участком расположения гигантских клеток. В жабрах такой процесс приводит к переполнению кровеносных сосудов и слиянию лепестков.

У канального сома установлено бессимптомное течение эпителиоцистиса. У рыб средней длиной 7,1 см цисты в клетках жаберного эпителия выявили гистологически. Они имели размер $9-19 \times 16-22$ мкм, а размер микроорганизмов в них составлял $0,29-0,43$ мкм [306].

Возбудитель эпителиоцистиса точно не определен. Он формирует в цитоплазме крупные тельца-включения, которые оттесняют к периферии ядро клетки. Кокковидные тельца имеют размер около 500 нм и могут быть отнесены к бедсониям или риккетсиям. В гипертрофированных клетках наблюдают круглые хламидиоподобные тельца, круглые неделяющиеся тельца и мелкие пулевидные тельца, что указывает на полиморфный цикл развития паразита [197, 199].

5. Жаберный некроз карпа

Некротические и гиперпластические изменения жабр у разных видов рыб являются довольно частыми и вызываются различными причинами. Они могут возникать при неблагоприятных воздействиях окружающей среды, несбалансированном кормлении, при поражениях рыб паразитами, бактериями, дрожжевыми грибами и др. [1, 13, 68, 81, 105, 114, 161, 180, 200, 207, 208, 250, 268].

Однако наиболее важное значение имеют некрозы жабр у карпов, которые получили широкое распространение в разных зонах нашей страны, в ПНР, НРБ, ВНР, ГДР, ФРГ, то есть в странах, где ведущим является карповодство.

Этиология жаберного некроза у карпов полностью не выяснена. Существуют две точки зрения: 1) жаберный некроз -

незаразная болезнь, причиной которой является накопление в воде интенсивно эксплуатируемых прудов большого количества органических веществ, что влечет за собой сдвиги pH, излишнее накопление свободного аммиака и ионов аммония, который переходит в аммиак, особенно с повышением температуры; 2) возбудителем болезни является вирус.

Исходя из этого, различают незаразный жаберный некроз и вирусный бранхионекроз, которые тем не менее одинаковы по клиническим признакам и патологоанатомическим изменениям.

По мнению В.А. Мусселиус [14] болезнь может носить смешанный характер, то есть имеющийся в организме карпа вирус не патогенен до тех пор, пока карпа содержат в оптимальных условиях (гидрохимический режим, кормление, плотность посадки и т.д.) и становится весьма патогенным в плохих условиях содержания, когда резистентность организма резко снижается.

Этиология. Выделенный от больных рыб вирус [4, 9, 12, 27] относится к иридовирусам. Он имеет двойной икосаэдрический капсид диаметром 190–210 нм. В градиенте хлористого цезия (20–40%), плавучая плотность частиц, осажденных из культуральной жидкости, равна 1,36 г/см³, а частиц, выделенных из клеток, – 1,365 г/см³. С помощью ДСН-ПААГ-электрофореза на пластинах выявлено восемь вирусспецифических полипептидов с молекулярной массой от 28×10^3 до 250×10^3 Д [34].

Вирус устойчив к эфиру, но инактивируется хлороформом; pH 3,0 снижает его титр на 90%. При температуре –20°C сохраняет свои свойства в течение 3,5 лет. Он относительно устойчив к нагреванию: при 27°C титр вируса снижается через 5 и 10 дней на 68,4 и 90% соответственно, при температуре 56°C инактивируется частично через 30 мин и полностью – через 60 мин [35, 36].

Репродукция вируса отмечается в первично трипсинизированных культурах клеток плавников серебряного карася, голака карпа и карася, в линиях клеток ЕРС и FHM при температуре 28–30°C [3]. Его титр в культурах клеток достигает 10^6 ТЦД₅₀/мл, при этом инфекционные титры связанного и свободного вируса почти одинаковы, а максимальное накопление наступает к 30–32 ч после заражения. В культуре клеток ЕРС наблюдают три типа цитопатических изменений: 1) цитотоксический эффект развивается в первые 6–12 ч после внесения высоких доз вируса (10^5 ТЦД₅₀/пробирку и более). Все клетки монослоя округляются, но остаются на

стекле, а в дальнейшем к этому действию присоединяется цитопатический эффект, связанный с размножением вируса; 2) тотальный цитопатический эффект наблюдается при заражении монослоя средними дозами вируса (10^3 – 10^4 ПД₅₀). Его развитие начинается с появления очагов ЦПД, которые увеличиваются в размерах и сливаются. Через 4–6 сут. после заражения происходит полное поражение монослоя с округлением и отпадением клеток от поверхности пробирки; 3) непрогрессирующий очаговый цитопатический эффект наблюдается при заражении культуры клеток низкими дозами вируса (10^0 – 10^2 ПД₅₀/пробирку). Изменения монослоя появляются через 2–3 сут. и проявляются в виде небольших очагов, представляющих собой скопления округлых клеток. Вначале эти очаги незначительно увеличиваются, а затем их рост останавливается, и они сохраняются вплоть до естественной дегенерации монослоя [34].

Эпизоотология. Болеют карпы всех возрастов, но более тяжело двухлетки, трехлетки и старшие рыбы. Сведения о заболевании серебряного карася, белого амура, белого и пестрого толстолобиков разноречивы, тогда как у щуки, окуня, сома, форели, буффало, плотвы и ерша поражения жабр не наблюдают.

Четкой зависимости между болезнью и температурой воды не существует. Ее вспышки можно регистрировать весной, сразу после пересадки рыбы из зимовальных прудов в нагульные, при этом нередко тяжело болеют производители. Она возникает летом при температуре воды около 20°C , а также в другое время года. Вспышка болезни может протекать кратковременно и сопровождаться значительной гибелью рыб (60–80%), или заболевание длится весь вегетационный период с невысокой смертностью (10–15%).

Источник возбудителя инфекции – трупы, больная и переболевшая рыба. Пути передачи инфекции подробно не изучены. Возникновению болезни способствуют ряд стрессовых факторов: недостаточный водообмен в прудах, высокие плотности посадки, смешанное выращивание рыбы, завезенной из разных хозяйств, накопление органических веществ в прудах [3, 8, 14].

Течение и симптомы. Инкубационный период при искусственном заражении равен 3–30 дням.

Больная рыба становится вялой, держится у поверхности воды, не реагирует на раздражения. Она плохо поедает корм, отстаёт в росте.

Жабры отекают, покрыты слизью, с беловатым налетом. С развитием процесса появляются кровоизлияния, а затем очаги некроза, и жабры становятся мозаичными. Участки некроза

иногда становятся настолько обширными, что при отторжении ткани обнажаются жаберные дуги.

При благоприятном течении у переболевших рыб пораженная жаберная ткань регенерирует.

В организме больных карпов отмечаются общие морфологические изменения. Количество эритроцитов и гемоглобина уменьшается на 18–40%, а количество лейкоцитов – увеличивается на 42–200%. Наблюдаются изменения морфологии клеток крови [7].

Изменяется относительное содержание и частота встречаемости отдельных белковых фракций сыворотки крови карпов. У зараженных рыб происходит накопление аммиака в крови, что связано с нарушением обмена веществ [32].

Патологоанатомические изменения. Почки отечные, рыхлые, селезенка увеличена, печень анемичная, временами желтушная. Иногда на перикарде и мозговых оболочках находят кровоизлияния.

Диагноз. Поскольку признано наличие незаразного и заразного жаберного некроза, диагностика является сложной [14].

При постановке диагноза учитывают эпизоотологические данные, клинические признаки и патологоанатомические изменения, но оценка этих показателей играет вспомогательную роль. Главными являются лабораторные исследования.

В первую очередь микроскопически исключают такие паразитарные болезни, как сфероспороз, миксоболиоз, дактилогироз, сангвиникоз, которые протекают со сходным поражением жабр. Затем проводят гидрохимические исследования: определение растворенного в воде кислорода, pH, жесткость, восстановленные формы азота, перманганатная и бихроматная окисляемость. Для исключения бранхиомикоза осуществляют гистологическое и при необходимости – микологическое исследования. Одновременно выполняют вирусологические исследования с использованием чувствительных к иридовирусу клеточных культур, и при выделении цитопатического агента ставят биологическую пробу. Следует отметить, что выделение вируса возможно как из жабр, так и из внутренних органов больных карпов, однако частота выделения может быть низкой, а отдельные изоляты с пассажами теряют способность репродуцироваться в клеточных культурах [35].

Диагноз на вирусный бранхионекроз ставят при выделении вируса от больных рыб и положительном результате биопробы при отрицательных паразитологическом, гидрохимическом и микологическом исследованиях.

Предлагавшиеся серологические реакции (РГА, РЗГА, РДП, МФА) не получили практического применения.

6. Вирусный некроз эритроцитов

Вирусный некроз эритроцитов (ВЭН, VEN) – заболевание разных видов рыб, характеризующееся анемией вследствие дегенеративных изменений эритроцитов.

Впервые некроз эритроцитов обнаружили в 1969 г. у трески. Затем болезнь зарегистрировали у других видов рыб в диких популяциях и при искусственном выращивании. Вначале ВЭН находили в северо-западной части Атлантики, позднее также в Ирландском и Северном морях [254].

Этиология. На основании обнаружения телец-включений и вирусных частиц в эритроцитах рыб ВЭН рассматривают как вирусную болезнь. ДНК-геномный вирус с икосаэдрической симметрией относят к иридовирусам. Диаметр вириона у атлантической сельди равен 145 нм, у кеты и горбуши – 179–199 нм, у морской собачки – 200–300 нм, а у трески – 310–360 нм [102, 252].

В зависимости от размера вириона электронно-плотное ядро имеет диаметр 100–230 нм, толщина капсида равна 12–35 нм и включает два электронно-плотных слоя, разделенных электронно-прозрачным веществом. Вокруг вирионов образуется неровная волокнистая, электронно-прозрачная зона.

В сердцевине некоторых вирионов выявляется трубчатый компонент диаметром 11–13 нм [214, 213, 254].

В зараженных клетках формируются цитоплазматические включения двух типов. Первый тип включений является крупным по форме, имеет диаметр до 1,5 мкм и по периферии или внутри обнаруживают вирусоподобные частицы. У второго типа включений размеры колеблются от 0,5 до 3 мкм, они менее электронно-плотные, чем окружающая цитоплазма, не имеют вирусных частиц и окружены многослойной оболочкой [213].

Попытки выделить вирус в культурах клеток RTG -2, CHSE -214 и FHM оказались безуспешными [102].

Эпизоотология. Вирусный некроз эритроцитов установлен у трески (*Gadus morhua*), атлантической сельди (*Clupea harengus harengus*), сельди (*Alosa pseudoharengus*), морской собачки (*Blennius polis*), липариса (*Liparis atlanticus*), бычка-подкаменщика (*Myoxocephalus octodecemspinosus*), кеты (*Oncorhynchus keta*), горбуши (*O. gorbuscha*), американского угря (*Anguilla rostrata*) и ряда других рыб.

У чавычи, кумжи и нерки в естественных условиях ВЭН не зарегистрирован.

ВЭН отмечается у рыб во все сезоны года при широком диапазоне температур (6,5–19,0°C и выше). Болезнь протекает хронически, смертность невысокая, но при осложнении вибриозом или бактериальной почечной болезнью может увеличиваться [102, 213, 253].

Очевидно, что ВЭН является болезнью морских и проходных рыб. Так, среди заводской кеты и горбуши распространение инфекции тем больше, чем ближе к морю расположен рыбзавод, и зараженность этих рыб колеблется от 0 до 17% [169]. По этой же причине отмечены колебания зараженности у тихоокеанской сельди (от 4 до 59%). У анадромной сельди вирусные включения в эритроцитах были чаще до нереста (56,1%), чем после (10,5%), а у находящейся в реках молодки включения не находили [249].

Проведенными опытами доказана возможность искусственного заражения лососевых рыб. При внутрибрюшинном введении вируссодержащего материала, полученного от больной кеты, заболевание воспроизводится у радужной форели массой 0,2–0,4 г, нерки (0,4–0,8 г), кижуча (0,7–0,9 г), чавычи (0,5–1,2 г), горбуши (0,4–4,2 г), американской палии (0,3–5,0 г), атлантического лосося (16,7–24,3), кеты (0,2–28,5 г) и кумжи (0,3–58,4 г).

Положительным было также заражение кеты и палии через воду. Вируссодержащий материал от сельди вызывал заболевание кеты при внутрибрюшинном введении. В ходе опытов было также установлено, что прогревание в течение 15 мин при температуре 60°C инактивировало заразное начало.

Клинические признаки и патологоанатомические изменения нехарактерны даже у сильно зараженных рыб. Отмечают бледный цвет жабр, печени, почек, сердца и пищеварительного тракта.

Патогенез. У зараженных рыб нарушается структура эритроцитов (неправильная форма, дегенерация ядер), понижаются свертываемость крови и уровень гематокрита (до 4–10%). Поражаются зрелые эритроциты, а также часть эритробластов, и эти клетки нестойки в изотонических растворах.

Реплицируясь в эритроцитах, вирус ВЭН разрушает их, в связи с чем происходит более активный гемопоэз в почках. Однако рыба становится менее устойчивой к недостатку кислорода и бактериальным инфекциям, у нее понижается способность регулировать солевой обмен при содержании в морской воде [170, 212].

Диагноз на ВЭН ставят на основании исследования мазков крови и обнаружения цитоплазматических включений. При этом учитывают, что тельца-включения у сельди, например, встречаются в 0,02% эритроцитов при умеренной инфекции и в 0,17% эритроцитов при сильном заражении [249]. Возможна электронная микроскопия эритроцитов с целью нахождения вирионов.

Вирусный некроз эритроцитов изучен недостаточно и меры борьбы не разработаны.

7. Вирусная геморрагическая септицемия

Вирусная геморрагическая септицемия (ВГС, VHS) – контактная болезнь радужной форели, которая характеризуется септическими (вирусемическими) процессами, кровоизлияниями в различные ткани и внутренние органы и резкими нарушениями жизнедеятельности организма.

Эту болезнь впервые описал В. Шеперклаус в 1937–1939 гг. в Германии под названием “воспаление почек”. В 1941 г. он воспроизвел заболевание у здоровых форелей путем инъекции фильтратов [236]. В связи с широким распространением и особенностями выделения вируса, ВГС имела различные названия, и настоящее название было дано на I-м Международном симпозиуме по болезням рыб (Турин, 1962 г.).

Окончательную ясность в вопросе об этой болезни внесли вирусологические исследования М. Jensen [137], L.O. Zwillenberg а. о. [292], биологические и морфологические работы С. J. Rasmussen [209] и P. Ghittino [117, 118].

Вирусную геморрагическую септицемию длительно регистрируют в большинстве стран Европы, где имеется развитое форелеводство. В последнее время она обнаружена в отдельных хозяйствах нашей страны [24].

В зависимости от течения ВГС гибель радужной форели колеблется от 9 до 80%. Ущерб значительный в связи с тем, что может гибнуть порционная форель, на выращивание которой уже затрачены определенные средства.

Этиология. Возбудитель вирусной геморрагической септицемии был впервые выделен от радужной форели на одной из ферм вблизи г. Эгтвед (Дания), в связи с чем его часто называют “Эгтвед-вирусом”.

Это РНК-содержащий вирус со спиральной симметрией, имеющий пальцевидную форму размером 180–240 × 60–75 нм. Его цилиндрические частицы имеют один закругленный, а другой плоский или слегка вогнутый внутри концы. На плоском

конце иногда различают "хвост" длиной 80–90 нм, который является продолжением капсида вириона. Центральная ось слабой электронной плотности диаметром 17–20 нм окружена рибонуклеопротеидом (РНП), спиральная структура которого придает частице полосатый вид. Нить РНП имеет толщину 6–6,5 нм, а промежутки между витками составляют 6 нм. Вирион окружен оболочкой толщиной около 10 нм, которая состоит из двух электронноплотных слоев с полупроницаемым промежутком между ними. Внутренний электронноплотный слой тесно связан с нуклеокапсидом, и на поверхности этой мембраны можно обнаружить ворсинки.

Плавучая плотность вируса в градиенте сахарозы составляет 1,145. Изучены свойства рибонуклеопротеида и структурных белков вируса, которые имеют тип лисса-вируса [40, 61, 273].

Вирус размножается в линиях клеток RTG-2 и FHM. При использовании среды Игла с 2% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота и pH 7,6 цитопатическое действие (ЦПД) вируса на культуры клеток при температуре 14°C наступает примерно через 30 ч. При этом клетки набухают, округляются, образуя небольшие гроздья, а затем отделяются от стекла. К вирусу чувствительна карповая линия клеток ЕРС (в 24–48-часовых культурах ЦПД наступает через 12–18 ч и завершается через 48–72 ч после заражения), а также первично трипсинизированные культуры клеток гонад радужной форели, линии клеток RF-28, RTF-1, RG, CaPi, CHSE-214, SHSE-214 [285].

Репликация вируса в клетках происходит при температурах от 10° (по некоторым данным даже при 6°) до 21°C, но наибольший его выход бывает при температуре 12–14°C. Максимальный титр сбора составляет $10^{6,5}$ ТЦД/мл. Выделение вируса происходит путем почкования на поверхности клетки или на мембранах ее вакуолей.

В культурах клеток получены терморезистентные (к 25°C) варианты возбудителя ВГС, которые стали менее цитотоксичными *in vitro* и менее патогенными *in vivo*, чем исходный штамм [154, 139].

Вирус чувствителен к эфиру, хлороформу и pH 3,5. Ультразвуком он разрушается на 95% в течение 1 мин. Он полностью инактивируется при температуре 44°C в течение 15 мин, на 50% инактивируется при 30°C в течение 15 мин, а при 14°C – на 90% в течение 24 ч. В 50%-ном растворе глицерина теряет 99% своей инфекционности через 6 дней при 14°C.

Через 24 ч выдерживания в дистиллированной воде при 14°C вирус теряет 50%, а в прудовой воде разного качества - 90% своей инфекционности.

Культуральный вирус, лиофилизированный в среде с 2% сывотки с равным объемом 5% глутамата, хранится длительное время.

Под действием ультрафиолетовых лучей (245 нм) вирус инактивируется за 10 мин, так же действует на него гамма-излучение. 2%-ный раствор едкого натра и 3%-ный раствор формалина разрушают его в течение 5-10 мин, а активный хлор (540 мг/л) - за 2-20 мин [46].

В тканево-культуральной жидкости при температуре 4°C вирус может сохраняться в течение 11 дней, тогда как при -20°C он сохраняет инфекционность около 2 лет, но его титр при этом снижается примерно на два порядка.

В погибшей рыбе вирус, как правило, исчезает через 24 ч хранения на льду, тем не менее при температурах хранения от +1° до -80°C его можно обнаруживать в отдельных случаях в течение двух недель.

Существует три серотипа возбудителя вирусной геморрагической септицемии, которые обозначают как ВГС₁ (F₁), ВГС₂ и 23/75. Эти серотипы различаются между собой в перекрестной реакции нейтрализации и имеют разный круг хозяев: ВГС₁ патогенен для радужной форели и щуки, а ВГС₂ и 23/75 - для радужной и ручьевой форелей [151].

Эпизоотология. В естественных условиях ВГС поражает главным образом радужную форель (*Salmo gairdneri*) в период ее активного роста (от сеголетка длиной 5-7 см до рыбы товарной массы). Молодь и производители обычно устойчивы к заболеванию. Она характеризуется сезонностью, и ее острое течение отмечают обычно при температуре воды 8-10°C, то есть в конце зимы и начале весны. Однако вспышки болезни можно наблюдать и в другие сезоны года при более высокой или низкой температурах.

Кроме радужной форели, спонтанные случаи заболевания в естественных условиях отмечают среди ручьевой форели (*S. trutta m. fario*), щуки (*Esox lucius*) и хариуса (*Thymallus thymallus*). Вспышку среди молоди щуки наблюдали в одном из швейцарских рыбоводных хозяйств. В течение недели погибло 120 тыс. мальков длиной 2,5-3,5 см (почти 100% популяции). Выделенный вирус идентифицировали как возбудителя ВГС в реакции нейтрализации и непрямым методом флуоресцирующих антител [175]. Характеристику выделен-

ных от мальков щуки штаммов дали W.Meier и P.E.V. Jorgensen [176]. В другом случае заболеванию трехнедельных щук и хариусов предшествовала массовая гибель от ВГС 16-недельной радужной форели [278].

При искусственном заражении к ВГС восприимчивы радужная и ручьевая форель, щука (к серотипам ВГС₁ и 23/75), хариус и сиг, палия и атлантический лосось [44, 155]. При экспериментальном заражении мальков лосося средней массой 1,7 г двумя серотипами вируса (ВГС₁ и 23/75) внутрив брюшинно по 10^3 БОЕ вируса, они заболевают и погибают от вирусной геморрагической септицемии в течение 13 дней (78 и 67% зараженных рыб соответственно). В тканях заразившихся рыб устанавливали довольно высокие титры вируса (до 2×10^6 ТЦД). Эти рыбы выделяли вирус в воду, что вызывало заболевание мальков радужной форели, содержащихся в воде, вытекающей из аквариумов с подопытными мальками лосося. При заражении мальков лосося путем выдерживания в течение 3 ч в содержащей вирус воде (5×10^4 БОЕ/мл) гибели или выделения ими вируса не наблюдали, однако в органах двух из 60 зараженных серотипом ВГС₁ и трех из 60 мальков, зараженных серотипом 23/75, был установлен исходный вирус. Через 79 дней после заражения обоими методами у выживших рыб были обнаружены довольно высокие титры антител, нейтрализующих гомологичные вирусы (до 1:1000).

Источником возбудителя инфекции являются рыбы – больная и вирусоносители. Вирусоносительство у рыб не только наблюдается в естественных условиях, но и доказано экспериментально [307]. Радужную форель длиной 25–30 см заражали штаммом F₁ путем 2-часового выдерживания в воде, содержащей 10^5 ТЦД₅₀/мл вируса, затем вводили катетеры в мочевого пузырь и определяли количество вируса в крови, моче и фекалиях. Через 3 дня после заражения вирус обнаруживали в крови и моче, и к моменту гибели рыб его количество составляло $108,5$ и $105,0$ ТЦД₅₀/мл соответственно. Вакцинированная или выжившая после ВГС форель при повторном заражении также рассеивает вирус с мочой более 30 дней, хотя и не имеет клинических признаков заболевания. Фактором передачи возбудителя могут быть трупы погибших больных рыб. Наличие вируса в икре кратковременное (в течение 3 дней), однако это может быть причиной возникновения ВГС у молоди радужной форели, находящейся в нижележащих бассейнах.

Заражение может происходить через воду, сачки, баки, сортировочные ящики, средства транспорта, через человека и, возможно, через птиц и беспозвоночных животных. Появлению и развитию болезни способствуют загрязнение воды, нерациональное кормление рыбы, грубые манипуляции с ней при сортировках, перевозке и т. д.

Вирусную геморрагическую септицемию всегда рассматривали как болезнь пресноводных хозяйств. Однако вспышку ВГС наблюдали и при выращивании форели в морской воде [74]. Характерные признаки и большая гибель наступила примерно через месяц после пересадки форели средней массой 180 г в морскую воду. В течение 2 мес погибло 85% первоначальной популяции. От больных рыб был выделен вирус ВГС 1-го серотипа. Экспериментально радужную форель заражали внутримышечным введением культурального вируса (7×10^1 , 7×10^4 или 7×10^6 БОЕ на рыбу) или путем выдерживания в течение 90 мин в воде, содержащей 3×10^4 БОЕ/мл вируса. Подопытных рыб содержали в пресной или морской воде. Заболевание и гибель рыб наступали при всех методах заражения и начинались раньше в морской воде.

Подобные вспышки ВГС отмечены также в других случаях.

Интересные результаты получены при исследовании радужной форели, свободно живущей в реке. Они были проведены в апреле (участки 1 и 2), сентябре и январе (участок 3). Участок 1 находился вблизи истока реки, участок 2 – ниже двух благополучных по ВГС хозяйств и участок 3 – в районе расположения неблагополучных по ВГС хозяйств. В культуре клеток RTG-2 исследовали материалы от 83 рыб, не имевших признаков заболевания. Вирус Эгтвед выделен от 10 из 22 форелей, выловленных на участке 3 в январе при температуре воды 2°C. От трех форелей выделен также вирус инфекционного некроза поджелудочной железы. Все изоляты вируса Эгтвед нейтрализовались сывороткой против типового штамма ВГС₁ (F₁) и были патогенными для 9-граммовой радужной форели [140]. Следовательно, ушедшая или выпущенная из неблагополучного хозяйства рыба может быть вирусоносителем в течение какого-то периода времени и представлять опасность при попадании в пруды благополучной фермы.

Течение и симптомы. Инкубационный период при ВГС различен и зависит от температуры воды, вирулентности возбудителя и резистентности форели. При температуре воды до 16°C он равен 7-15 дням, редко 25 дням и более. Такой же период инкубации бывает при внутрибрюшинном заражении рыбы,

а при контактном заражении он достигает 4 недель.

Болезнь протекает остро, хронически и в нервной форме.

Острое течение ВГС характеризуется быстрым развитием болезни и высокой смертностью форели. У больных рыб нарушается координация движений. Они имеют темно-коричневый цвет и выраженное пучеглазие, нередко одностороннее. Жабры анемичные, с полосчатыми кровоизлияниями. Выявляются также кровоизлияния в конъюнктиве, которые более часты у мелкой форели. Иногда основания плавников имеют красноватую окраску.

При хроническом течении окраска тела почти черная; сильно выражена экзофтальмия, часто двухсторонняя; жабры светло-розовые или беловато-серые.

При нервной форме рыбы внешне здоровые, жабры имеют нормальный красный цвет. Отмечают своеобразное поведение больных рыб: они движутся по спирали у дна бассейна или против течения, иногда плавают кругами на боку, у них отмечают внезапные спазматические подергивания тела. Число таких рыб обычно незначительное, гибель единичная.

У больных мальков щуки и хариуса наблюдают экзофтальмию, кровоизлияния на боках тела, на голове и у оснований плавников. [177].

Патологоанатомические изменения. При остром течении болезни у радужной форели имеются многочисленные кровоизлияния, которые особенно заметны в мышцах, жировой ткани, на плавательном пузыре, брюшине и сердце. Печень гиперемирована, красного цвета; почки красные, поверхность их гладкая. При хроническом течении печень бледная, сероватого цвета, иногда с петехиями. Почки серые, могут иметь волнистую поверхность. Заметно выражена анемия. Иногда бывает скопление экссудата в брюшной полости. При нервной форме существенных патологоанатомических изменений не обнаруживают.

У мальков щуки и хариуса отмечают анемию, гемоперикардит, асцит, обширные брюшинные и внутримышечные кровоизлияния.

Гистологически у больных рыб регистрируют множественные кровоизлияния и некротические фокусы в различных органах и тканях.

В головной почке обнаруживают истощение кроветворной ткани и распад скоплений меланомacroфагов, а также вирусные частицы. В периферической крови увеличено число измененных эритроцитов [54].

Вирусные частицы размером 200×70 нм наблюдали также в головной почке мальков щуки [177].

Патогенез. Вирус проникает в рыб через жабры. Заражение через желудочно-кишечный тракт менее вероятно, так как в кислой среде вирус инактивируется.

Это показано в недавних опытах М. Neukirch [187]. Радужную форель длиной 8–10 см заражали штаммом F_1 (BGS_1) путем выдерживания в течение 2 ч в водной суспензии вируса (10^5 ТЦД₅₀/мл), после чего рыб дважды промывали в чистой воде. После промывания, а затем через определенные промежутки времени определяли наличие вируса в жабрах, крови и внутренних органах подопытных рыб.

Сразу после обмывания рыбы вирус выделяли из жабр, через 2 дня его обнаруживали во внутренних органах и крови, а через 3 дня – в мозге зараженных рыб. Наиболее высокие его титры находили во внутренних органах (около 10^7 ТЦД₅₀/г), несколько ниже – в крови ($10^{6,5}$ ТЦД₅₀/мл), жабрах (10^5 ТЦД₅₀/г) и мозге ($10^{4,5}$ ТЦД₅₀/г). Очевидно, проникая через жабры, вирус в первую очередь размножается в этом органе и эндотелиальных клетках всей кровеносной системы, а затем проникает во внутренние органы и ткани, вызывая в них глубокие патологические изменения. Поражение мозга приводит к появлению нервных симптомов заболевания, а эндотелия сосудов – к нарушению их порозности и образованию кровоизлияний. В то же время в желудочно-кишечном тракте форели длиной 14–16 см морфологические изменения незначительные.

Патоморфологические изменения у сеголеток радужной форели обнаруживаются уже через 2 дня после заражения [133, 202].

В первую очередь наступает дегенерация эндотелия синусов селезенки и почек. Наряду с этим отмечают некрозы гемопоэтической ткани и паренхимы селезенки, в меньшей степени – в печени и поджелудочной железе, снижается количество эритроцитов, лейкоцитов и лимфоцитов. Поражение гемопоэтической ткани и непосредственно клеток крови клинически проявляется анемией рыб. Доказана способность вируса персистировать в лимфоцитах крови [100].

У выживших рыб некробиотические процессы приостанавливаются и начинаются процессы регенерации, образования очагов гемопоэза в селезенке и почках. Происходит восстановление количества клеток крови за счет образования незрелых форм, увеличивается диаметр и площадь поверхности эритроцитов и их ядер [132].

В отдельных случаях не удается выделить вирус от радужной форели, имевшей клинические признаки ВГС. При гистологическом и электронно-микроскопическом исследованиях у таких рыб устанавливали изменения, характерные для мембранного гломерулонефрита, наблюдаемого у млекопитающих. При этом Боуменово пространство исчезает, стенки капилляров утолщены, а в их просвете расположены моноциты и макрофаги. В субэндотелии большинства клубочков обнаруживаются электронно-плотные отложения. В свете этого у рыб предполагается постинфекционная нефропатия со скоплением иммунокомплексов в стенках капилляров [96].

У зараженных рыб возникают значительные биохимические изменения [116, 130]. В сыворотке крови нарушается соотношение изоэозимов лактатдегидрогеназы (ЛДГ₁, ЛДГ₂ и ЛДГ₃), при этом повышается активность ЛДГ₃. Активность изоэнзима щелочной фосфатазы снижается у больных годовиков на 42%, а у больных трехлеток на 86,3%, и общий уровень щелочной фосфатазы выше, чем у здоровых рыб. Увеличивается также общая активность аспартатамино трансферазы и аланинаминотрансферазы. Отмечаются гипергликемия, снижение содержания липидов, сильные колебания концентрации электролитов. Заметно уменьшается количество общего белка в сыворотке крови, особенно резко — количество сывороточных альбуминов, однако количество альфа- и бета-глобулинов у больных рыб намного больше, чем у здоровых. Обнаруживается только одна гамма-глобулиновая фракция. Альбумин-глобулиновый коэффициент у больных годовиков составляет 0,17, у трехлеток — 0,25, тогда как у здоровых годовиков — 0,91 и у трехлеток — 1,3.

Таким образом, под действием вируса в организме происходят тяжелые некробиотические и биохимические изменения, которые приводят к гибели больных рыб.

Диагноз. Предварительный диагноз ставят на основании эпизоотологических данных, клинических признаков и патологоанатомических изменений, гистологического и гематологического исследований.

Достоверный диагноз возможен лабораторными методами исследования — выделением вируса в культуре клеток и его идентификацией с помощью серологических реакций.

При гистологическом исследовании характерными являются фокусы некрозов клеток в различных органах и тканях, особенно в гемопоэтической ткани, а также множественные кровоизлияния разного размера. Гематологическое исследование пока-

зывает уменьшение количества клеток крови. Количество эритроцитов может снижаться до 500 тыс./мм³, а гемоглобина соответственно до 10–20%.

Выделение вируса возможно как в первично трипсинизированных культурах клеток гонад радужной форели, так и в перевиваемых линиях клеток (см. раздел "Этиология"). В работе необходимо использовать культуры в возрасте не более 4 дней. Следует учитывать, что в передней почке и селезенке больных рыб количество вируса в 100–1000 раз больше, чем в других органах и тканях.

Идентификацию выделенного вируса проводят обычно в реакции нейтрализации (РН), используя чаще всего сыворотку против штамма F₁ (ВГС₁), поскольку серотип ВГС₁ распространен наиболее широко. При использовании в РН хранившейся иммунсыворотки от радужной форели в реакционную смесь необходимо добавлять свежую нормальную форелевую сыворотку (1:40) в качестве источника комплемента, что повышает чувствительность РН в 10 раз [91, 94]. Другим способом идентификации возбудителя ВГС является метод иммунофлуоресценции в прямом или непрямом варианте. Этот метод позволяет также обнаруживать вирусный антиген в тканях и органах зараженных рыб [279], при этом отмечают, что интенсивность специфического свечения пропорциональна концентрации вирусного антигена [99]. Показана возможность прямого электронномикроскопического обнаружения вирусных частиц в тканях больных рыб [55, 177], однако этот метод едва ли будет широко использоваться в диагностической работе.

Иммунитет и средства специфической профилактики. У переболевших рыб создается напряженный иммунитет с образованием вируснейтрализующих антител. Этот факт побуждает исследователей разрабатывать способы вакцинации радужной форели против геморрагической септицемии. M. Dorson [89] указал на возможность иммунизации радужной форели путем выдерживания в растворе вакцины после "осмотического шока" (погружения на 2 мин в 5,2%-ный раствор поваренной соли). Несколько раньше [50] было установлено, что при внутрибрюшинном введении вируса (2×10^8 БОЕ) у 200-граммовой радужной форели образуется интерферон (до 2000 ЕД/мл сыворотки крови).

В последние годы ведется работа по созданию аттенуированных вакцинных штаммов возбудителя ВГС. Путем пассирования в культуре клеток ЕРС получен терморезистентный вариант F25 возбудителя ВГС, который реплицируется при темпе-

ратуре 25°C, является слабо патогенным для радужной форели, но чувствительным к интерферону [153]. При иммунизации 1-2-граммовых мальков радужной форели методом погружения в ванну, содержащую 5×10^5 БОЕ этого вируса, на 30 мин при температуре воды 10°C выживаемость вакцинированных рыб была на 30% выше, чем среди контрольных. Устойчивость против штаммов трех разных серотипов вируса сохранялась не менее 100 дней, а через 180 дней антитела против серотипа ВГС₁ обнаруживали у 80%, а против серотипа ВГС₂ - у 100% иммунизированных рыб [62].

Данные опыты указывают на возможность приготовления вакцины против ВГС, однако до сих пор такие препараты не существуют.

Лечение ВГС не разработано. Применение окситетрациклина, метиленового синего, витаминных и других премиксов направлено лишь на облегчение течения болезни.

При эпизоотологических обследованиях в отдельных форелевых хозяйствах Украины отмечали массовую гибель мальков радужной форели в период пересадки из питомника в мальковые пруды, а также повышенный отход производителей с признаками гепатомы.

У молоди наблюдали следующие клинические признаки заболевания: беспорядочные, спиралеобразные движения, лежание на дне бассейна с последующим резким подъемом к поверхности; диффузное потемнение кожи, увеличение объема брюшка, гиперемия и выпячивание слизистой ануса, анемия жабр, иногда пучеглазие. При вскрытии отмечали наличие серозного экссудата в брюшной полости. Печень увеличена, желтого цвета, дряблой консистенции, с кровоизлияниями. Селезенка также увеличена, темно-вишневого цвета. Почки рыхлые, серые. Слизистая кишечника гиперемирована, с кровоизлияниями, просвет кишечника заполнен густой слизью. При гистологическом исследовании наиболее выраженные изменения находили в печени: застойная гиперемия сосудов, мелкие кровоизлияния, очаговая гидремическая дистрофия и миллиарный некроз гепатоцитов. Регистрировали также острый нефрозо-нефрит, очаговый геморрагический спленит и острый гастроэнтерит.

В течение 1975-1980 гг. проводили вирусологические исследования больных рыб, в результате которых от мальков, сеголеток, двухлеток и производителей было выделено 18 изолятов вируса. Выделение и пассирование изолятов проводили в первично трипсинизированной культуре клеток гонад радужной культуры и в перевиваемых культурах клеток ЕРС и FHM при

температуре инкубации 22–24°C. При этих условиях цитопатическое действие вируса проявлялось через 24–48 ч, а позднее дегенерировал весь клеточный монослой. Титр вируса составлял 105,7 – 106,4 ТЦД50/мл.

В ультратонких срезах вирус имеет пулевидную форму и размеры 140–160×60 нм, располагается в межклеточном пространстве и в цитоплазматических вакуолях клеток. Он чувствителен к эфиру, слабо устойчив в среде с рН 3,0, не агглютинирует эритроциты кролика. При температуре 4°C его цитопатическая способность в тканево-культуральной жидкости сохраняется в течение 6 мес., а в лиофилизированном состоянии – в течение трех лет. В 50%-ном растворе глицерина не теряет своей активности в течение 10 дней. Он патогенен для молоди радужной форели при внутрибрюшинном и внутримышечном введении и содержании подопытной рыбы в воде при температуре 16–18°C, но не при 8–10°C. Вирус не нейтрализуется иммунсыворотками против штамма ВГС₁ (F₁), инфекционного некроза поджелудочной железы, инфекционного некроза гемопоэтической ткани и весенней виремии карпов [15, 16, 17, 18, 19, 21, 22].

Авторы считают, что выделенный от больных мальков рабдовирус вызывает самостоятельную рабдовирусную болезнь мальков радужной форели, при которой производители являются вирусоносителями и выделяют вирус с икрой. Для уменьшения концентрации вируса на икре и в окружающей среде, с целью профилактики заболевания рекомендуется проводить обработку оплодотворенной икры раствором хлорамина двукратно: после оплодотворения и ее набухания непосредственно перед помещением в аппараты для инкубации, а также за 18 дней до выклева свободно живущих эмбрионов.

Концентрация хлорамина в растворе 1:20000 (50 г/м³), время обработки – 30 мин [23].

Описанные болезнь и ее возбудитель весьма сходны с вирусной геморрагической септиемией радужной форели. Однако по сравнению с возбудителем ВГС отечественный вирус отличается термофильностью, быстрым проявлением ШПД и не нейтрализуется типовой сывороткой F₁ (ВГС₁) [15]. Дальнейшие глубокие исследования с применением разнотиповых референтных сывороток покажут целесообразность выделения этой болезни в самостоятельную нозологическую единицу.

8. Инфекционный некроз гемопоэтической ткани

Инфекционный некроз гемопоэтической ткани молоди нерки и других лососевых рыб характеризуется некротическими изменениями в гемопоэтической ткани и высокой смертностью больных рыб.

Впервые эту болезнь наблюдали среди молоди нерки на рыбзаводах штатов Вашингтон и Орегон (США), расположенных в бассейнах рек Тихого океана. Вначале различали болезнь нерки реки Колумбия и болезнь оregonской нерки, но позднее установили, что их природа одинакова, и заболевание — на основании патогенетических особенностей — было названо инфекционным некрозом гемопоэтической ткани (инфекционным гемопоэтическим некрозом, ИГН, INN) [52]. В ходе обследований ИГН регистрировали в восточных и других штатах США [134, 276, 287], в Канаде и на Аляске [122, 275], а также в Западной Европе и Японии [150, 173, 231]. В СССР эта болезнь не регистрируется.

Этиология. Возбудителем ИГН является РНК-содержащий рабдовирус пулевидной формы размером $158-181 \times 65-90$ нм с поперечной исчерченностью, имеющей шаг в 5,5 нм, и пепломерами на наружной поверхности шириной 10 нм. Наружная оболочка вируса из тканево-культуральной жидкости имеет толщину 15 нм, покрывает ядерную часть диаметром 60 нм с осевой полостью диаметром 20 нм. Такие же размеры вириона определяют в клетках гемопоэтической ткани и селезенки, поджелудочной железы и пилорических отростков зараженной молоди нерки [50, 84]. У разных штаммов нуклеокапсидные белки N имеют молекулярную массу 39500, 40500 и 43000 Д, а гликопротеины оболочки G — 67000, 69000—71000 Д [164].

Вirus реплицируется в линиях клеток RTG-2, FHM, CHSE -214, SSE -5, STE -137, CSE -119, EPC, CHSE -114, AS, ASH, BF -2, GE -4, RBS, RF -28, RTF -1, RTH -149. В культуре клеток RTG-2 при температуре 15°C титр вируса быстро достигает $10^{4,0}$ ТЦД₅₀/мл, при этом ШПД характеризуется зернистостью и краевым расположением хроматина в клетках. В культуре клеток FHM при 18°C вирус начинает размножаться через 16–24 ч, а первые признаки ШПД появляются через 32–48 ч (увеличение базофилии ядра и уменьшение плотности хроматина в нем). Через 3 дня размер ядра увеличивается и часто в одной клетке наблюдают два или несколько ядер. Затем клетки округляются и скопляются групп-

пами в виде виноградной грозди. Через 5-7 дней после заражения клетки опадают от стекла, и в это время титры вируса становятся максимальными ($10^{6,0}$ ТЦД₅₀/0,2 мл). В культуре клеток CHSE -114 вирус в первом пассаже не проявляет ЦПД и его титр увеличивается незначительно (с $10^{2,6}$ до $10^{3,4}$ ТЦД₅₀/0,5 мл), но к пятому пассажу вирус адаптируется, вызывая характерное ЦПД и повышение титра до $10^{5,2}$ /0,5 мл. Более 95% вируса выходит из клеток в культуральную жидкость и лишь около 5% остается внутри клеток. Чувствительность изолятов вируса ИГН к разным клеточным линиям может колебаться. Так, при исследовании овариальной жидкости стальноголового лосося и личинок чавычи методом бляшек и методом разведения до конечной точки было установлено [106], что изоляты вируса от стальноголового лосося вызывали типичные изменения только в двух линиях клеток (ЕРС и FHM), а изоляты от чавычи - в четырех линиях (CHSE -214, STE -137, FHM и ЕРС). Титры изолятов от чавычи в клетках FHM и ЕРС были в 10-50 раз выше, чем в других культурах. Метод бляшек был более чувствительным, чем метод разведения до конечной точки. В данном случае изоляты вируса не вызывали цитопатических изменений клеток RTG -2. Размер бляшек в культуре ЕРС может значительно колебаться (от 317 до 699 мкм) в зависимости от штамма [164].

Установлено персистирование вируса ИГН при определенной множественности заражения культур клеток CHSE -214 и YNK и последующем субкультивировании [98, 271]. Для персистирующей линии клеток характерно выделение большого количества вируса в культуральную жидкость, тогда как рост клеток не нарушается. Эта линия клеток оставалась чувствительной к гетерологическому вирусу ИГН, что, по мнению авторов, связано с отсутствием в механизме персистенции продукции интерферона.

Вирус чувствителен к эфиру и pH 3,0. При температуре 60°C он инактивируется в течение 60 мин, длительно сохраняется при лиофильном высушивании, но довольно быстро инактивируется в растворе глицерина. Сохранение инфекционности вируса в гомогенатах тканей радужной форели зависит от температуры, срока хранения и типа ткани. При температуре 20°C инфекционность сохраняется в гомогенатах икры; мозга и в среде Игла максимум в течение недели, при температуре 4°C - в течение 5 нед. в овариальной жидкости, сыворотке крови, среде Игла и гомогенатах икры и мозга, а при -20°C - в те-

чение 5 мес в гомогенатах икры и мозга. В гомогенатах почек, селезенки, печени вирус сохраняется более короткое время, а в гомогенате кишечника он инактивируется сразу. В связи с изложенным не рекомендуется готовить гомогенизированные пробы в полевых условиях и пересылать их в лабораторию для исследования [71].

Эпизоотология. Инфекционным некрозом гемопоэтической ткани болеют проходная и пресноводная нерка, радужная форель, кета, чавыча и стальноголовый лосось.

Эпизоотические вспышки регистрируются весной и в начале лета в период от рассасывания желточного мешка до сеголетка. Наиболее сильно подвержена заболеванию нерка в возрасте 5–6 месяцев. Штучные отходы, составляющие обычно 0,01% в сут. через 6–9 дней после начала вспышки могут составлять в отдельных бассейнах 28–32%, а через 12 дней – 50% от общего количества рыбы. В течение месяца погибает 90% рыбы и более.

Вирус передается потомству через икру. Отмечаемую иногда цикличность появления эпизоотических вспышек ИГН объясняют происхождением молоди от возвратившихся из моря рыб, переболевших инфекционным некрозом гемопоэтической ткани и являющихся вирусоносителями. При исследовании овариальной жидкости взрослых самок с рыбзаводов и естественных водоемов в трех популяциях нерки и четырех популяциях чавычи, неблагополучных по ИГН, вирус обнаруживали у 39–100% исследованных рыб, и его средний титр составлял $1,55 \times 10^4$ БОЕ/мл [183]. При нерестовой миграции нерки в пресную воду количество вируса в органах и тканях меняется. Высокие концентрации вируса устанавливаются у рыб во время нереста и после него, при этом количество зараженных рыб за двухнедельный период увеличивается почти вдвое. У нерестующих рыб вирус определяется в икре и овариальной жидкости, почках, селезенке, пилорических отростках, заднем отделе кишечника, печени, жабрах, но не обнаруживается в мозге и сыворотке крови. После нереста вирус часто находят в жабрах, реже – в пилорических отростках и иногда – в других органах [182].

Кроме передачи вируса потомству через икру, заражение молоди возможно при скармливании внутренних органов взрослых рыб и их икры. Источником заражения может быть также вода, в которой находились больные рыбы, трупы, вирусоносители, инвентарь. В речной воде, заселенной рыбами-вирусоносителями, обнаруживали вирус ИГН в количествах 32,5–

1600 БОЕ/мл [181]. Чувствительность радужной форели к вирусу ИГН повышается после воздействия на нее сублетальными дозами меди [125]. Вирус установлен у радужной форели, выращиваемой в морской воде. Эта рыба не имела признаков заболевания, но была вирусоносителем [76].

Экспериментальное заражение молоди нерки и радужной форели массой 0,2–0,3 г возможно как путем инъекции вируса внутривенно, так и путем выдерживания в воде, содержащей вирус. После выдерживания молоди нерки в воде с $10^{3,3}$ ТИД₅₀/0,25 мл вируса в течение 1 часа симптомы болезни при температуре 12°C развиваются через 4 дня и через 5–14 дней погибает около 90% подопытных рыб. Годовики нерки массой около 20 г заболевают через 13 дней после внутривенного введения 0,05 мл культурального вируса в титре $10^{5,5} = 10^{6,5}$ ТИД₅₀/0,2 мл.

Вспышки ИГН возникают обычно при температуре воды 8–12°C. Однако отмечаются случаи заболевания при температуре выше 12°C [73]. В опытах на радужной форели массой 0,2–0,3 г подтверждено, что после выдерживания в течение 24 ч в воде, содержащей 10^5 БОЕ/мл вируса ИГН, заболевание мальков наступает как при 3–12°C, так и при температуре 15–21°C [126].

На появление ИГН влияет плотность закладки икры на инкубацию. Так, в инкубационные аппараты размером 2,5 × 1,25 × 1,25 м закладывали 900000, 650000 и 350000 икринок, полученных от нерки, неблагополучной по ИГН. При температуре воды 7–8°C выход живых мальков из разных аппаратов резко не различался, однако среди мальков, полученных из аппаратов со средней и высокой плотности икры, отмечали вспышку ИГН и гибель 90% рыб при последующем содержании в лабораторных условиях. Мальки, выведенные в аппаратах с низкой плотностью закладки икры, инфекционным некрозом гемопоэтической ткани не заболели [181]. Разумеется, низкая плотность закладки икры в инкубационные аппараты не может быть единственным фактором снижения гибели мальков от ИГН. Тем не менее, плотность популяции играет определенную роль в распространении болезни. Так, летом 1980 и 1981 гг. в одном из озер Аляски, куда выпускали молодь с рыбзаводов, среди покатной нерки регистрировали кожные поражения хвостового стебля, вокруг брюшных и хвостовых плавников, а также кровоизлияния в жабры и иногда в глаза. Гибель рыбы, выловленной для наблюдения, составляла 2,5–8%. При исследовании различных органов 14–16-месячной нерки массой 27–

65 г установлен вирус в титрах $1,1 \times 10^3 - 1,34 \times 10^6$ БОЕ/г ткани, который идентифицирован как возбудитель инфекционного некроза гемопоэтической ткани. Патогенных бактерий не находили, но у отдельных рыб имелась цистода *Eubothrium* [308].

Течение и симптомы. Инкубационный период у молоди лососевых рыб длится от 7 до 12 дней. При экспериментальном заражении путем парентерального введения вируса инкубационный период колеблется от 1 до 45 дней, что зависит от вирулентности, метода введения вируса и возраста рыбы.

Первым признаком заболевания выращиваемой молоди является внезапная повышенная гибель (более 2% в день от общего поголовья), тогда как в общем рыба кажется здоровой. Лишь перед смертью она становится вялой, перестает реагировать на звук и прикосновение, в то же время примерно у 10% больных рыб появляются спазматические движения, и они плавают на боку по кругу. Такая активность чередуется с неподвижностью, когда рыба лежит на дне бассейна.

Кожные покровы рыбы темнеют, отмечают энтерит с выделением беловатых экскрементов. Появляются вздутие брюшка и иногда пучеглазие, кровоизлияния у оснований плавников и межаберном пространстве, отеки непосредственно позади головы и жаберных крышек. Жабры становятся бледными.

Общая гибель рыбы может достигать 90% и более. У отдельных выздоровевших рыб (менее 1% от общего поголовья в конце вспышки ИГН) наблюдают искривления позвоночника (сколиозы и лордозы).

В последние годы отмечают случаи ИГН среди нерки 7-14-месячного возраста [290]. У таких рыб клинические признаки заболевания были невыраженными.

Патологоанатомические изменения. У молоди лососевых появляются кровоизлияния на плавательном пузыре, брюшине и забрюшинном жире. Желудок растянут и заполнен молочной жидкостью. В кишечнике водянистая жидкость соломенного цвета, его стенка часто окрашена в красный цвет от петехий. В почках некротические фокусы и кровоизлияния. Селезенка становится бледной, в печени иногда отмечают некротические участки. У годовиков патологоанатомические изменения не обнаруживают.

Патогенез. При заражении молоди нерки средней массой 0,2 г путем выдерживания в течение 1 ч в воде, содержащей 8×10^3 ТЦД₅₀/мл вируса ИГН, возбудитель обнаруживается в рыбе через 24 ч. Рыба не питается на 3-й день после зара-

жения, а на 4-й день начинается гибель мальков, при этом концентрация вируса в них достигает максимума ($10^{6,0}$ ТЦД₅₀/г).

Слабые изменения гемопоэтической ткани, особенно в передней почке, обнаруживаются на 3-й день после заражения и характеризуются увеличением количества макрофагоподобных и уменьшением недифференцированных клеток. Типичные гистологические изменения в органах отмечаются на 5-12-й дни после заражения. В передней почке наблюдают вначале мелкие, легко окрашивающиеся участки, состоящие в основном из макрофагов и дегенерированных лимфоидных клеток. С развитием патологического процесса дегенеративные изменения становятся более выраженными, появляются скопления хроматина вокруг ядер макрофагов, а также пикноз и некроз лимфоидных клеток. Отмечаются лейкопения и отсутствие недифференцированных клеток. В различных тканях протекает также умеренная воспалительная реакция. На заключительной стадии болезни прогрессирующие некротические изменения находят также в селезенке, печени, поджелудочной железе и зернистых клетках кишечника. Поражение последних клеток является патогномоничным у рыб до 4-месячного возраста [290]. У годовиков нерки морфологические изменения не выраженные, и они регистрируются в кроветворной ткани почек и селезенки в виде некротических очагов.

Таким образом, при ИГН в первую очередь поражается кроветворная ткань рыб, что приводит к нарушениям гемопоэза и изменению состава крови [182].

Диагноз на инфекционный некроз гемопоэтической ткани ставят путем выделения вируса от больных рыб в культуре клеток (см. раздел "Этиология"), при этом чаще всего используют линии клеток RTG-2, FHM. Учитывают также клинико-анатомические признаки заболевания и эпизоотологические особенности течения эпизоотии. Идентификацию выделенного вируса проводят реакцией нейтрализации гомологичной иммун-сывороткой в культуре клеток. Для экспрессной диагностики ИГН применяют метод иммунофлуоресценции [45].

Иммунитет. В сыворотке крови переболевших рыб накапливаются вируснейтрализующие антитела. Однако можно предполагать, что иммунитет у рыб нестерильный, так как среди взрослых рыб имеется широкое вирусоносительство [184]. Отмечают антигенную однородность вируса ИГН [45], однако средства специфической профилактики отсутствуют.

Лечение также не разработано.

9. Весенняя вирусная болезнь. Весенняя виремия карпов

Это заболевание является одним из группы (комплекса) инфекционных болезней, имеющих сходные клинические признаки и патологоанатомические изменения, но различающихся по этиологическому фактору. Эта группа болезней широко известна под общим названием краснуха (инфекционная брюшная водянка, геморрагическая септицемия) и характеризуется геморрагическим воспалением кожи и внутренних органов, асцитом, ерошением чешуи, экзофтальмией и в ряде случаев — образованием язв на теле рыб.

О краснухе рыб опубликовано около 1500 работ, из них не менее 500 являются отечественными. Еще в 1904 г. М. Плен в качестве возбудителя "доброкачественной немецкой краснухи карпов" описала *Bacterium cyprinicida*, а В. Шеперклаус в 1930 г. — бактерию *Achromobacter punctatum* как возбудителя "инфекционной водянки" карпов [236]. На всем протяжении исследования краснухи высказывались различные мнения об этиологии болезни и даже в настоящее время по этому вопросу не существует единой точки зрения. Тем не менее большинство исследователей считало и считают краснуху инфекционной болезнью.

Как группу (комплекс) болезней, имеющих разную этиологию, краснуху стали рассматривать после того, как от остро больных рыб был выделен рабдовирус [28, 113]. В Западной Европе считают, что краснуха (инфекционная водянка) включает две болезни — весеннюю виремию и эритродерматит карпов. В СССР существует две точки зрения. Согласно одной, краснуха вызывается вирусом, а также бактериями (аэромонадами и псевдомонадами) в качестве секундарной инфекции [25]. Согласно второй точке зрения, под названием краснухи объединяются три самостоятельные болезни — аэромоноз, весенняя вирусная болезнь и псевдомоноз рыб [10, 11]. Эти болезни могут протекать самостоятельно, а также в виде смешанных инфекций. Эта точка зрения в общем совпадает с существующей в Западной Европе. В Югославии, ФРГ, Венгрии, Чехословакии и других странах описана весенняя виремия карпов (ВВК). Морфологические и культуральные свойства возбудителя ВВК сходны со свойствами рабдовируса, выделяемого в нашей стране. Он изолирован не только от карпов, но также от белого и пестрого толстолобиков, карасей и мальков сома [29, 37, 110, 158]. Все это дает основание

рассматривать данный рабдовироз как весеннюю вирусную болезнь (ВВБ) рыб, объединяя два существующих наименования болезни (ВВК/ВВБ). В этом плане и дается настоящий обзор.

Весенняя вирусная болезнь – заболевание карпов и других прудовых рыб, которое характеризуется острым течением, выраженной сезонностью и сопровождается гибелью рыб в весенний период.

Этиология. Возбудителем ВВБ является РНК-содержащий вирус пулевидной формы размером $105-125 \times 70-85$ нм. Снаружи поверхность вирионов покрыта тонкими выступами длиной около 8 нм; толщина оболочки равна 10–20 нм. У вирионов выявляется спиральная укладка рибонуклеопротеида с шагом симметрии $3,25-3,54$ нм; в цилиндрической части вириона уложено 23 ± 2 полных витка РНП, а в конусной части его вершины – около 5 витков. Размеры полости цилиндра вириона, куда проникает контрастирующее вещество, сильно колеблются.

Возбудитель ВВБ частично проходит через мембранный фильтр № 1 с порами диаметром 350 нм, но незначительно задерживается фильтром № 2 с размером пор 500 нм ($10^{5,66}$ ТЦД₅₀/мл вместо $10^{6,66}$ ТЦД₅₀/мл в нефiltroванном тканево-культуральном материале).

В градиенте сахарозы вирусные частицы имеют плотности $1,16$ г/см³ [163]. В вирионе содержится несколько структурных белков с различной молекулярной массой: G – гликопротеид ($73-85 \times 10^3$ Д), белок L ($149-180 \times 10^3$ Д), белок нуклеокапсида N ($42-45 \times 10^3$ Д) и мембранный белок M ($19-21 \times 10^3$ Д). Имеются также два вирионных фосфопротеина NS1 (48×10^3 Д) и NS2 (34×10^3 Д), которые вместе с белком L являются, по-видимому, компонентами транскриптазы [225, 226]. Сравнение первичной последовательности белка M возбудителя ВВК с последовательностью такого же белка вируса везикулярного стоматита показало высокий процент гомологии (28%). При этом выделяли мРНК, кодирующую матриксный белок M, и получали полные копии ДНК, клонированные в плазме *Escherichia coli*. Полученный клон состоял из 710 нуклеотидов с 3-гомополимерными концами. Кодированный им белок состоял из 223 аминокислот и обладал молекулярной массой 25×10^3 Д [157].

Вирус реплицируется в первично трипсинизированных культурах клеток гонад карпа и в перевиваемых линиях клеток ЕРС, FHM, BF-2, ВВ, РG, RF-28, RTG-2 и ВНК-21 [30, 309, 69, 159, 110, 157].

Репродукция вируса сопровождается четко выраженным цитопатическим действием с полной деструкцией монослоя в течение 2–4 сут. В молодых клеточных культурах ИПД проявляется быстрее, чем в более старых. Как правило, титр вируса составляет 10^6 – 10^8 ТИД₅₀/мл, при этом многократное пассирование в культурах клеток не повышает титров.

Размножение вируса в клеточной культуре происходит при широком диапазоне температур: при комнатной температуре (19–22°C) его титр может достигать $10^{7,76}$ ТИД₅₀/мл, при 25°C – $10^{8,0}$ ТИД₅₀/мл, а при 29°C – $10^{6,83}$ ТИД₅₀/мл. При температуре 4°C репродукция вируса практически не происходит. Он полностью инактивируется при инкубации зараженных клеточных культур при 38°C. Оптимальный pH среды при выращивании вируса является 7,4–7,6.

Вирус не устойчив к эфиру и хлороформу, чувствителен к pH 3,0. Прогревание при температуре 60°C приводит к полному инаktivированию вируса в течение 30 мин. При температуре 4°C он может сохраняться около года в среде, при pH 7,4–7,6, а отдельные штаммы и более длительное время. В органах больных рыб, консервированных 50%-ным фосфатно-буферным раствором глицерина вирус сохраняется не менее 6 мес.

Возбудитель ВВБ не обладает гемагглютинирующей активностью в отношении эритроцитов карпа, радужной форели, лошади, овцы, кролика, морской свинки, белой крысы, гуся, курицы и голубя.

Вирус патогенен для карпов при экспериментальном заражении (внутрибрюшинно, внутримышечно, интраваскулярно, через рот, а также путем выдерживания в течение 3 ч в растворе культурального материала 1:100 на водопроводной воде).

Эпизоотология. Для ВВБ характерна сезонность. Вспышки болезни начинаются при температуре воды 10–14°C, обычно через 1–2 нед. после пересадки рыбы из зимовальных прудов в нагульные. Появление признаков болезни возможно уже во время пересадки, хотя в зимовалах заметной гибели рыбы не наблюдается. Редко заболевание появляется примерно через месяц после пересадки из зимовалов, при этом клинические признаки и патологоанатомические изменения у рыб менее выражены.

Болезнь отмечена у карпов [28, 113], а также у пестрого и белого толстолобиков [29, 37], карасей [158] и мальков сома [110]. При совместном выращивании с карпами болеют и погибают также белые амуры. Проявление болезни у рыб свя-

зано со стрессовыми факторами в течение зимовки (пересадки, антипаразитарные обработки, перевозки и т.д.).

Выделяемый вирусоносителями возбудитель ВВБ вызывает заражение рыб через жабры и пищеварительный тракт. Установлена также передача возбудителя через кровососущих рачков *Argulus foliaceus* [201]. Передача возможна через воду, в которой вирус сохраняется 2–3 дня при температуре 20–22°C.

Дафнии, циклопы, мотыль, коретра и, по-видимому, трубочник не кумулируют вирус из воды и едва ли являются переносчиками вируса [311].

Вспышки ВВБ среди карпов продолжаются 1–1,5 мес и прекращаются с повышением температуры воды до 18–20°C. Количество больных в неблагополучном пруду может достигать 40% и более. Исход заболевания в общем неблагоприятный, однако выздоровление рыб возможно, и оно наблюдается как при экспериментальном заражении, так и в естественных условиях [30, 159].

Симптомы и патологоанатомические изменения. Инкубационный период при естественной инфекции в условиях рыбоводных прудов колеблется от 7 до 30 дней. При экспериментальном заражении он длится 4–6 дней, но в зависимости от температуры воды может быть продолжительнее.

У карпов изменяется поведение. Больные рыбы выходят на мелководные участки пруда, у них наблюдают угнетение и нарушение координации движения – плавают по кругу или штопоробразно.

При внешнем осмотре регистрируют пучеглазие (одно- или двухстороннее), диффузное или очаговое ерошение чешуи, вздутие брюшка, точечные кровоизлияния или пятнистые покраснения у оснований грудных и брюшных плавников. Реже встречаются рыб с темными кожными покровами, с сухой шершавой кожей, или покрытых сапролегниевыми грибами, с цианозом или анемией жабр и грязно-серым налетом на них, а также рыб с серповидными кровоизлияниями в глазное яблоко и слабо разволокненными плавниками.

При патологоанатомическом вскрытии у больных рыб обнаруживают распространенный отек тела, скопление в брюшной полости желтоватой, иногда с примесью крови жидкости, отек внутренних органов.

Печень увеличена в объеме, неравномерно окрашена, бледная или пятнистая, иногда с точечными кровоизлияниями и беловатыми узелками. Почки набухшие, дряблые, редко с пят-

нистыми кровоизлияниями. Селезенка у большинства рыб увеличена, U-образной формы, темно-вишневого цвета, у некоторых рыб встречаются сероватые бугорки или пятна под капсулой. Кишечник обычно пустой, с явлениями катарального воспаления и редкими точечными кровоизлияниями на слизистой.

При гистологическом исследовании внутренних органов и кожи выявляют тяжелые дегенеративно-некробиотические и воспалительные процессы. Особенно чувствительна к возбудителю болезни гемопоэтическая ткань. В целом заболевание имеет септический характер, однако обнаружить вирусные тельца-включения не удалось [5].

Растительноядные рыбы, как и карпы, становятся вялыми, скапливаются на мелководье. У погибших пестрых толстолобиков и белых амуров отмечают умеренное вздутие брюшка и некоторое увеличение внутренних органов. У белых толстолобиков регистрировали гиперемию кожных покровов, основания плавников и межлучевой ткани разной степени выраженности; локальные изъязвления кожных покровов, лизис эпидермиса; кровоизлияния в глазное яблоко; анемичные жабры с участками некроза [37].

У мальков сома в возрасте 8-18 дней наблюдали гидropsический синдром, умеренные кровоизлияния и быструю гибель [110].

Патогенез. Проведенными исследованиями установлено, что вирус находится в крови, асцитной жидкости, мозге, жабрах, печени, селезенке, почках, мышцах, коже и слизи кишечника естественно больных карпов. Количественное распределение вируса в некоторых органах и тканях рыб изучено в эксперименте на карпах-сеголетках. Через сутки после заражения вирус циркулирует в крови (10^3 ТЦД₅₀/мл) и одновременно находится в печени (10^4 ТЦД₅₀/г), селезенке (10^4 ТЦД₅₀/г) и почках (10^5 - 10^6 ТЦД₅₀/г). На 2-3-й день вирусемия резко снижается (менее 10^2 ТЦД₅₀/мл), но до момента гибели рыб вирус персистирует в печени и селезенке, в меньших количествах - в почках [30]. При заражении карпов-двулеток отмечают колебания количества вируса в разных органах. Через 7 дн после заражения вирус определялся иммунопероксидазным и флуоресцентным методами в почках и в меньшей степени - в печени и селезенке, при этом титр вируса в почках составлял $10^{2,8}$ - $10^{5,5}$ ТЦД₅₀/г, а из печени и селезенки не выделялся. Однако через 24 дн вирусный антиген обнаружили в печени и селезенке и его титр был равен $10^{3,8}$ - $10^{7,2}$ ТЦД₅₀/г, тогда как в почках антиген не выявляли и вирус не выделяли [104].

Таким образом, проникая в кровь, вирус разносится во все органы и ткани. Размножаясь в клетках, он вызывает их лизис и тяжелые морфологические изменения органов и тканей. Нарушение нормальных физиологических процессов и изменение порозности сосудов приводят к кровоизлияниям, гидросическим явлениям, скоплению экссудата в брюшной полости, а также появлению периваскулярных клеточных инфильтратов. Вирус влияет на гемопоэтическую ткань почек и селезенки, резко уменьшая количество клеточных элементов в ней, а также на клетки крови, в результате чего снижается количество эритроцитов ($0,50-0,88$ млн/мм³ против $1,03-1,91$ млн/мм³) и гемоглобина ($2,6-5,0$ г % против $3,2-10,2$ г%). Поражение центральной нервной системы (расширение сосудов, перичеселлюлярные отеки и сморщивание нейронов) вызывает изменение поведения рыб, нарушение трофических процессов, приводящих к потемнению кожных покровов, истощению и т.д.

Вызываемые вирусом альтернативные изменения создают благоприятные условия для развития вторичной микрофлоры, а также возбудителей других бактериальных и грибных инфекций.

Диагноз ставят на основании клинических признаков и патологоанатомических изменений с учетом эпизоотологических данных, характеризующих вспышку заболевания, и обязательно подтверждают выделением вируса [30]. Разработаны также иммунопероксидазный и флуоресцентный методы диагностики, при этом учитывают, что в почках антиген наиболее часто определяется с 7 по 14-й день, а в печени и селезенке - с 14 по 24-й день после заражения [103, 104]. У карпов-двухлеток с помощью метода флуоресцирующих антител вирусный антиген обнаруживается часто также в слизистой кишечника [159].

Выделение вируса осуществляют, как правило, в первично трипсинизированных культурах клеток гонад карпа, а также в линиях клеток ЕРС и FHM. Вирус выделяется от больных рыб в период эпизоотической вспышки, при этом следует брать для исследования пробы всех внутренних органов, кровь и асцитную жидкость рыб [159].

Патогенность вируса подтверждают постановкой биологической пробы. Результат биопробы зависит от температуры воды. По мнению O. Kölbl [159], подопытных рыб необходимо содержать в воде при температуре не выше 15°C .

Идентификация возбудителя ВВБ проводится в реакции нейтрализации. Дополнительное подтверждение ВВБ дает гистологическое исследование, в ходе которого обнаруживают тяжелые

дегенеративно-некробиотические и воспалительные процессы во внутренних органах, особенно в гемопоэтической ткани.

Одновременно с вирусологическим необходимо проводить бактериологическое исследование, чтобы определить патогенную микрофлору при возможной смешанной инфекции.

Иммунитет. После болезни у карпов развивается иммунитет, и они вновь не заболевают.

Годовики карпа приобретают иммунитет после внутрибрюшинного и перорального введения живого вируса (104,8-106,2 ТЦД50). Защитная реакция при этом не зависит от нейтрализующей активности сыворотки и утрачивается через 9-11 мес. При температуре 13-14°C карпы образуют низкие титры нейтрализующих антител, а при 25°C антителообразование протекает быстро и на высоком уровне [111, 112].

Подобную температурозависимую реакцию карпов отмечают другие исследователи. А.-М. Badouy с.а. [57, 58] у выживших после заражения карпов наблюдали нейтрализующие антитела в сыворотке крови в течение 5 месяцев, причем максимальный титр наступал через 2 мес у 20% этих рыб. Инфекция развивалась при температуре около 18°C, но возрастающий иммунитет опережал наступление высокой гибели. При температуре между 18 и 11°C появлялись клинические признаки заболевания, но часть иммунных рыб выживала, а при температуре ниже 10°C иммунитет не развивался, и болезнь всегда заканчивалась гибелью рыбы. При введении карпам массой 35-50 г вирулентного штамма вируса (10³ ТЦД50) W. Ahne [41] наблюдал клиническое проявление болезни и гибель при температуре 10-12°C, а при 20-22°C рыбы оставались здоровыми, вирус от них вновь не выделяли, но в сыворотке крови находили нейтрализующие антитела (1:32 - 1:256), а в печени и селезенке регистрировали гистиоцитарную реакцию. O. Köhl [159] также подтверждает, что при температуре ниже 15°C наступает полная гибель зараженных рыб, а температура выше 15°C способствует образованию иммунитета и защите от повторного парентерального заражения. Он отмечает, что вирулентность вируса можно снизить путем пассирования в культуре клеток холоднокровных животных, однако при этом наступает одновременная потеря его иммуногенности. При пассировании в культурах клеток теплокровных животных (куриные фибробласты, ВНК -21) вирулентность также снижается, но сохраняется его иммуногенность. Более стойкий иммунитет отмечается при одновременном применении авирулентного и имеющего остаточную вирулентность штаммов.

Паразитарные инвазии препятствуют развитию антивирусного иммунитета.

Несмотря на проводимые исследования по изучению иммунитета и конструированию вакцин против весенней вирусной болезни, пока нет достаточно эффективных средств специфической профилактики этой болезни [20, 26, 77, 264].

Лечение больных рыб также не разработано.

10. Рабдовирусная болезнь мальков щуки

Это заболевание наблюдали в Нидерландах в 50–70-х годах. Молодь щуки получали заводским методом, подращивали в течение трех недель, и при достижении длины 4–5 см выпускали в естественные водоемы. В процессе подращивания регистрировали массовую гибель 3–4-сантиметровой молоди, у которой находили две предположительно разные болезни – “краснуху” или “гидроцефалез”.

При “краснухе” у молоди наблюдали красные припухлости на боках тела, очень бледные жабры и вялые плавательные движения у поверхности воды, а при “гидроцефалезе” – сильный отек головы, экзофтальмизм, слабый рост и низкую упитанность рыбы. Молодь плавала у поверхности воды, а иногда двигалась по кругу и теряла равновесие.

Гистологически также находили некоторые различия. При “краснухе” имелись обширные кровоизлияния в межмышечной соединительной ткани и в мышцах. Кровоизлияния отмечали также на всем протяжении спинного мозга, в селезенке, поджелудочной железе и гемопоэтической ткани почек. При “гидроцефалезе” регистрировали большое количество цереброспинальной жидкости, содержащей эритроциты, в желудочках среднего мозга, разбросанные кровоизлияния в головном и спинном мозге и иногда – в селезенке. Общими были некроз эпителиальных клеток в отдельных канальцах почек, а также гиалиновые цилиндры и клетки крови в их просвете.

У больных рыб патогенных бактерий и паразитов не находили, и лишь в 1973 г. при исследовании в культуре клеток FHM был выделен вирус. Он имеет характерную для рабдовируса пулевидную форму размером $115-135 \times 72-88$ нм с внутренним осевым каналом диаметром 25 ± 5 нм. Рибонуклеопротеид придает вириону вид поперечной исчерченности, а окружающий его капсид имеет выступы длиной 9 ± 2 нм [156]. У больных мальков щуки вирусные частицы обнаруживаются экстракционно в гемопоэтической ткани почек и имеют размер 160×45 нм [65].

Вирус содержит пять структурных белков (G, M, L, N и NS), из них белок N связан с РНК, а гликопротеид G образует наружную мембрану вириона. Определены молекулярные массы белков вириона и показано, что NS — белок является фосфопротеидом. Вирионная РНК имеет молекулярную массу $3,8 \times 10^6$ Д.

Вирионы обладают протеинкиназной и РНК-полимеразной активностью. Для проявления последней необходимо наличие в системе Mg^{2+} четырех нуклеозидтрифосфатов и неионного детергента; оптимальная температура этой реакции *in vitro* составляет $21^\circ C$. РНК, комплементарная к вирионной РНК, синтезируется в зараженных клетках. Сделан вывод, что РНК-полимераза вирионов представляет собой вирионную транскриптазу [227].

Вирус хорошо реплицируется в культуре клеток FHM. При температуре $14-23^\circ C$ цитопатические изменения в виде округления клеток и разрушения монослоя завершаются за 40 ч. Титр вируса в этой культуре при температуре $23^\circ C$ достигает $107,2$ ТЦД₅₀/0,1 мл. Он может размножаться также в культурах клеток RTG-2 и RF-28 ($106,25$ ТЦД₅₀/0,1 мл), в линии клеток BV ($105,75$ ТЦД₅₀/0,1 мл).

Заболевание воспроизведено у мальков щуки длиной 5–6 см при внутрив брюшинном введении культурального вируса ($1,0 \times 106,0$ или $1,2 \times 107,0$ БОЕ на рыбу). При температуре 14 или $21-24^\circ C$ погибало 40–96% подопытной рыбы, при этом морфологические изменения были такими же, как и у естественно больных "краснухой" и "гидроцефалезом" мальков. Интересно отметить, что введение возбудителя весенней виремии карпов ($4,0 \times 107,0$ БОЕ на рыбу) вызывало сходное заболевание щуки, хотя патологические изменения были менее выраженными. Тем не менее иммунсыворотки против весенней виiremии не нейтрализуют рабдовирус мальков щуки [156].

На основании проведенных исследований сделан вывод, что среди молоди щуки существует вирусное заболевание, которое назвали рабдовирусной болезнью мальков щуки. Отдельные клинические и морфологические особенности этой болезни в том или ином случае могут доминировать и давать картину "краснухи" или "гидроцефалеза" [64].

Отмечены некоторые эпизоотологические особенности этой болезни. Она отмечается только среди молоди длиной до 4 см. С возрастом восприимчивость мальков резко снижается. Так, при заражении мальков щуки длиной 4–5 см путем выдерживания в течение 1 часа в воде, содержащей $6,0 \times 105$ БОЕ/мл

вируса, лишь у отдельных рыб появляются водянка головы и кровоизлияния в мозге.

В нерестующей щуки вирус не обнаруживается как в икре и овариальной жидкости, так и в других внутренних органах. Следовательно, возможность вертикальной передачи вируса сомнительна. Однако экспериментально доказано, что он может переживать некоторое время на поверхности икры и вызывать гибель молоди через 14 дней после выхода из икры, а обработка икры раствором йодофора вескодина в концентрации 25 частей/106 в течение 30 с инактивирует не менее 99,99% вируса на ее поверхности [64].

Вирус мальков щуки установлен у других видов рыб. Он выделен от трехлеток белого амура [38], двухлеток линя и густеры [48]. Полученные изоляты имели антигенное родство между собой и были патогенными для молоди белого амура массой 100–170 мг, но не заражали сеголеток радужной форели (3 см длиной), линя (7 см), белого амура (10 см) и щуки (10–15 см).

В настоящее время неизвестно значение вируса мальков щуки для других рыб, однако его выделение от белого амура, линя и густеры указывает на широкий круг хозяев этого возбудителя.

11. Рабдовирус окуня

В начале 1980 г. в научную лабораторию во Франции завезли окуня (*Perca fluviatilis*) средней массой 19,5 г. Сто рыб содержали в бетонном бассейне (4,8 × 1,0 × 0,3 м) с хлорированной водопроводной водой при температуре 10–12°C. Через неделю у окуней заметили нервные расстройства (потеря равновесия, некоординируемые движения). Позднее погибло более 30% рыб.

Паразитологическое и бактериологическое исследования были отрицательными, и поэтому провели вирусологическое исследование. От трех погибших окуней взяли пробы передней почки и селезенки, а также отдельно – мозга, приготовили суспензии на растворе Эрла в соотношении 1:20 и исследовали их в 24-часовых культурах клеток RTG-2, выращенных в лунках плато. В качестве поддерживающей использовали среду Игла-МЕМ с 2% телячьей сыворотки при pH 7,6. Зараженные культуры инкубировали при температуре 14°C.

Через 9 дней в культурах, инокулированных суспензией мозга отметили фокусы округлившихся клеток. ЦПД медленно уси-

ливалось, и через 20 дней после заражения наступило разрушение монослоев клеток. При пассаже цитопатического агента отмечали аналогичное ШПД. При титровании методом бляшек установили, что титр вируса не превышал $105,0$ БОЕ/мл. Диаметр бляшек был менее $0,5$ мм, что значительно меньше бляшек вирусов инфекционного некроза гемопоэтической ткани и вирусной геморрагической септицемии ($1-2$ мм). После 20 пассажей полное ШПД наступало через 4 дня.

В культуре клеток ЕРС цитопатическое действие вируса не проявлялось. Иногда отмечали появление мелких групп округлившихся клеток, которые затем исчезали. Прогревание вирусной суспензии ($103,0$ БОЕ/мл) при температуре 37°C в течение 30 мин снижало титр на 99%.

Проведена электронная микроскопия клеток RTG-2 с развывшимся ШПД через 4 дня после заражения. Их фиксировали 1,6%-ным раствором глутаральдегида, забуференным $0,1$ М раствором какодилата натрия ($\text{pH } 7,3$), а затем 1%-ным раствором тетраокиси осмия и пропитывали эпоном. Ультратонкие срезы окрашивали уранилацетатом и ледяной уксусной кислотой. В электронном микроскопе обнаружили клетки, содержащие многочисленные вирусные частицы пулевидной формы размером 200×100 нм.

Биологическую пробу поставили на молоди окуня массой $5-10$ г. Пять групп по 18 рыб содержали в 15-литровых аквариумах при температуре воды $10-15^{\circ}\text{C}$. Заражение провели тремя методами: 1) выдерживание в течение 2 ч в воде, содержащей $5 \times 106,0$ БОЕ вируса в 15 л воды; 2) интракраниальная инъекция $0,03$ мл вируссодержащей суспензии ($3 \times 104,0$ БОЕ/мл); 3) внутрив брюшинное введение $0,5$ мл такой же вирусной суспензии. Контрольным рыбам вводили аналогичным образом среду Игла.

Нервные расстройства, сходные с симптомами у естественно больных рыб, отметили у окуней, которым сделали интракраниальные инъекции. Из мозга пяти таких рыб реизолировали вирус. От рыб из других опытных групп выделить вирус не удалось. Молодь радужной форели оказалась устойчивой к заражению.

Приготовленные на кроликах и форели антисыворотки нейтрализовали гомологичный вирус и были неактивными против вирусов ИГН и ВГС. Иммуносыворотки против ВГС и ИГН слабо нейтрализовали рабдовирус окуня.

Таким образом, выделен ранее неизвестный рабдовирус окуня, и необходимо детальное изучение его свойств.

12. Вирусы и вирусные болезни угрей

Среди угрей, обитающих в естественных водоемах, довольно широко распространена болезнь "цветная капуста". В последние десятилетия успешно развивается промышленное выращивание угрей. Такое выращивание наиболее развито в Японии, куда завозят угрей из стран Европы, Филиппин и других регионов. Импорт стекловидных угрей из Европы в 1969 г. составил 20 т, он достиг максимума в 1973 г. (200 т), а затем резко упал до 20 т, так как появились тяжелые заразные болезни, опасные также для японских угрей [95]. В связи с этим проводились различные, в том числе вирусологические исследования. Впервые вирус был выделен от угрей, больных "цветной капустой", впоследствии были выделены другие вирусы, и в настоящее время известно шесть типов, обозначенных как EV -1, EV -2, EVE, EVA, EVEX и B₁₂ [45, 93, 285]. От европейских угрей (*Anguilla anguilla*) выделены вирусы EV-2, EVE, EVEX и B₁₂, от американских (*A. rostrum*) - EV -1 и EVA. Ниже дается краткая характеристика вирусов угрей и вызываемых ими болезней.

12.1. Болезнь "цветная капуста" (стоматопапилломатоз)

Это заболевание угрей характеризуется развитием кожных опухолей на голове (особенно на челюстях), прилежащих к голове частях тела, редко - на боках, хвостовом стебле и сопровождается резким истощением больных рыб.

Случаи "цветной капусты" давно отмечают не только в морских прибрежных водах европейских стран, но и в реках, озерах [95, 136]. В СССР спорадически встречаются больных угрей на некоторых участках Балтийского моря [33].

В Америке и Японии "цветную капусту" среди угрей не регистрировали [86].

Этиология "цветной капусты" точно не выяснена. Как известно, из опухолей с кусочками кожи и из крови угрей выделен вирус в культурах клеток гонад линя и карпа, линиях клеток RTG-2 и FHM. Цитопатические изменения в клеточных культурах наблюдали при температуре инкубации 16-18°C, они появлялись через 2-4 дня после заражения и развивались к 6-8 дн [203]. Электронно-микроскопически в клетках опухолей обнаружили пента- или гексагональные вирусоподобные частицы диаметром около 30 нм, а в культурах клеток, инфицированных кровью больных угрей, - такие же частицы диаметром около

55 нм. Эти частицы находили в ядрах, а позднее — в цитоплазме клеток [242]. Однако вызвать заболевание угрей культуральным вирусом не удалось. Данный вирус, обозначенный, как EV-2, предварительно относят к сем. Paroviridae [232].

Выделенный от угрей вирус EV-1 остается неклассифицированным [172].

12.2. Вирусы культивируемых угрей

В связи с массовым заболеванием выращиваемых угрей в Японии проводили их исследование после определенного срока выдерживания в прудах и бассейнах.

В партии американских угрей, завезенных из Кубы в 1974 г., с весны до осени (за 170 дней) погибло 59% популяции. Эта эпизоотическая вспышка наблюдалась среди рыб средней массой 1 г и длиной 6–7 см. Их выращивали при температуре воды 20–27°C. У больных рыб наблюдали интенсивное покраснение плавников, диффузное покраснение кожи брюшка, они часто плавали вниз головой. При вскрытии находили интенсивные кровоизлияния и дегенерацию скелетной мускулатуры, гиперемии сосудов жабр, а также кровоизлияния в Боуменову капсулу и каналы почек.

От больных рыб был выделен рабдовирус размером 136–150 × 61–76 нм и назван вирусом американского угря (EVA). В культуре клеток RTG-2 через 7 дней инкубации при 20°C он вызывал округление клеток, зернистость цитоплазмы, пикноз ядер, а затем разрушение монослоя. Максимальный сбор вируса составлял 10^{6,1} ТЦД₅₀/мл. Вирус чувствителен к действию эфира, хлороформа и этанола; его можно сохранять до 80 дней в 50%-ном растворе глицерина. В антигенном отношении он отличается от возбудителей инфекционного некроза гемопоэтической ткани и вирусной геморрагической септицемии [228].

При исследовании в 1976 г. шести проб стекловидных угрей, только что привезенных из Франции, во всех случаях был выделен вирус, а при исследовании пяти партий клинически здоровых европейских угрей массой 0,61 г, взятых из прудов, вирус выделили в одном случае.

В культурах клеток RTG-2, инокулированных материалами этих проб, при температуре 15°C ЦПД развивалось в течение 7 дней и характеризовалось округлением и деструкцией клеток монослоя. При электронной микроскопии установили, что цито-

патогенный агент представляет рабдовирус размером $170 - 175 \times 90-95$ нм. Он не нейтрализуется иммуносыыворотками против вирусной геморрагической септицемии, весенней виремии и инфекционного некроза гемопоэтической ткани, чувствителен к эфиру, хлороформу, этанолу и pH 3,0; прогревание в течение 30 мин при температуре 50°C снижает его инфекционность на 3 порядка. Титр вируса в культуре клеток RTG-2 может достигать $10^{6,1}$ ТИД₅₀/мл. Он длительно сохраняется при температуре $4, -20$ и -80°C , но при 20°C полностью теряет свою инфекционность через 90 дней [230]. Позднее и в Европе выделяли рабдовирусы от стекловидных и выращиваемых угрей, и изоляты обозначили как EVEX и B₁₂.

При сравнении 10 изолятов рабдовируса, выделенных от европейских угрей, определили две группы, различающиеся по биологическим и биохимическим свойствам [75]. Два изолята отнесены к подгруппе лиссавирусов. Они не способны репродуцироваться в культурах клеток RTG-2 и EPC при температуре 20°C . Их вирионы имеют длину $221-254$ нм и содержат полипептиды L, G, N, M₁ и M₂ с молекулярными массами 165×10^3 , 75×10^3 , 45×10^3 , 29×10^3 и 25×10^3 Д. Полипептид G содержится в минорных количествах. Остальные 8 изолятов отнесены к подгруппе везикуловирусов. Они репродуцируются в культурах клеток EPC и RTG-2 при температуре 20°C , имеют длину вирионов 165 нм и менее, содержат в своем составе полипептиды L, G, N, NS и M с молекулярными массами 165×10^3 , 65×10^3 , 50×10^3 , 45×10^3 и 28×10^3 Д.

Патогенная роль выделенных от угрей рабдовирусов изучена недостаточно. В опытах при температурах от 7 до 19°C вирусы EVEX и B₁₂ не были патогенными для стекловидных угрей. При введении малькам радужной форели вирус EVEX вызывал геморрагическую септицемию, которая не отличалась от клинических признаков и гистологических изменений при вирусной геморрагической септицемии, но не вызывал заражения и гибели 5-9-месячной форели [109]. Также недостаточно исследованы их антигенные связи, однако установлено, что вирусы EVA и EVEX являются антигенно родственными, а угревый штамм B₁₂ отличается от всех известных рабдовирусов рыб [45].

В угреводстве Японии с 1969 г. наблюдали массовые вспышки болезни с высокими отходами рыбы (более 50% популяции). Заболевание ежегодно протекало в период температур воды ниже 20°C (с осени до весны) среди рыб массой $2,7-160,0$ г

и длиной 18–49 см. Вначале оно появилось среди европейских, а затем и среди японских угрей (*A. japonica*).

На основании патологоанатомических изменений его назвали бронхионефритом.

У больных рыб отмечают спазмы тела, втянутое брюшко с кровоизлияниями на его поверхности, покраснение анального плавника. Жабры отечные с застоем крови и часто с кровоизлияниями. При вскрытии регистрируют гипертрофию почек, пустой кишечник, в брюшной полости иногда скапливается асцитная жидкость. Гистологически устанавливают пролиферативный эксудативный гломерулонефрит и гиалиново-капельную дегенерацию, иногда слущивание клеток эпителия канальцев.

Жаберный эпителий гиперплазирован, лепестки булавовидно утолщены и сплавлены друг с другом.

От больных рыб из разных хозяйств выделен вирус в 24-часовой культуре клеток RTG-2. При температуре 20°C ЦПД проявляется через 3–4 дня, а при 10°C оно завершается за 10 дней, однако в обоих случаях титр вируса составляет $10^{7,5}$ – $10^{8,0}$ ТЦД₅₀/мл. Картина ЦПД имеет большое сходство с цитопатическим действием вируса инфекционного некроза поджелудочной железы: небольшое количество клеток монослоя темнеет, отмечается пикноз ядер и сгущение цитоплазмы, монослой становится складчатым и постепенно изреживается, но некоторое количество клеток слоя остается неповрежденным. Тельца-включения в клетках не формируются.

При электронной микроскопии установлено, что вирусные частицы имеют пяти-или шестиугольный профиль. Они формируются в вакуолях или цитоплазме клеток. Средний диаметр частиц в клетках линии RTG-2 равен 72 нм, а в клетках почек угря 74 нм. Плавучая плотность вируса составляет 1,33 г/см³. При концентрировании и очистке полиэтиленгликолем наряду со стандартными вирионами в препаратах определяют субъединицы с диаметром 20 нм и плотностью 1,30 г/см³ [191].

Вирус стабилен в среде с pH от 3,0 до 9,0 и инактивируется при pH 11,0. Он устойчив также к эфиру, хлороформу и этанолу; прогревание при температуре 60°C в течение 30 мин снижает его активность. В 50%-ном растворе глицерина сохраняется больше года, хранение при температурах –20°C или –80°C более 30 мес не влияет на его инфекционность.

Выделенный агент назван вирусом европейского угря (EVE). По морфологическим и биологическим свойствам он

сходен с вирусом инфекционного некроза поджелудочной железы, в связи с чем эти вирусы сравнивали в перекрестной реакции нейтрализации. Установлено антигенное родство между вирусом EVE и европейскими штаммами ИПН – французским d'Noicthun и датским серотипа Ab [194].

Однако полипептидный состав этих вирусов резко различается, молекулярная масса вируса EVE равна $2,2 \times 10^6$ Д, а вируса ИПН – $2,3 \times 10^6$ Д [127]. В опытах при температуре 8–14°C французский штамм ИПН не вызывает заражение угрей массой 4–26 г, а вирус EVE – заболевание молоди радужной форели массой 0,11 г. Заболевание экспериментально зараженных вирусом EVE европейских угрей не отличается от бронхионефрита рыб, наблюдающегося в условиях прудовых хозяйств [228].

Предложено название болезни – вирусная почечная болезнь. Ее эпизоотии в Японии распространены среди европейских угрей, но иногда они отмечаются также среди японских угрей. Вероятно, возбудитель этой болезни – вирус EVE проник в Японию с импортированными европейскими стекловидными угрями [232].

1.3. Инфекционный некроз поджелудочной железы

Инфекционный некроз поджелудочной железы, инфекционный панкреатический некроз (ИПН, IPN) – вирусное заболевание молоди разных видов лососевых рыб, которое характеризуется поражением поджелудочной железы и других органов и тканей, быстрым развитием болезни и высокой смертностью рыб, выращиваемых в искусственных условиях.

Болезнь под этим названием впервые описали в США у молоди американской палии (*Salvelinus fontinalis*), однако еще ранее ее, по-видимому, наблюдали в Канаде как “острый катаральный энтерит” [289]. В 1960 г. вирус от больных рыб был выделен на культурах эксплантатов радужной форели [283].

ИПН известен не только в США и Канаде, но также в ряде стран Европы, в Японии и других местах Азии, что связывают с перевозками живой рыбы и икры [119, 124]. Он завезен также с икрой из Северной Америки в Чили [312]. В настоящее время инфекционный некроз поджелудочной железы и его возбудитель являются наиболее изученными из всех вирусов и вирусных болезней рыб.

Этиология. Возбудитель болезни относится к группе бинавирусов. Он представляет РНК-содержащий вирус кубичес-

кой симметрии. Его пента- и гексагональные частицы без наружной оболочки имеют диаметр 57-74 нм и 92 или 162 капсомера [142, 162]. Коэффициент седиментации вируса составляет 435S, а молекулярная масса 55×10^6 Д.

Геном вируса состоит из двух сегментов двуцепочечной РНК, которая имеет молекулярную массу $4,8 \times 10^6$ Д, что составляет 8,7% массы вириона. Ее плавучая плотность в градиенте сернокислого цезия равна $1,615 \text{ г/см}^3$, а температура плавления 89°C . Соотношение пуринов к пиримидинам в РНК близко к единице. Она устойчива в отношении РНК-азы, а ее синтез *in vivo* чувствителен к циклогексамиду.

При электрофорезе в 5%-ном полиакриламидном геле РНК вируса разделяется на два компонента. Структурные белки разделяются по размеру на три класса: большой вирионный полипептид с молекулярной массой 105000 Д (4%), средний полипептид с молекулярной массой 54000 Д (62%) и два малых полипептида с молекулярными массами 31000 Д (28%) и 29000 Д (6%). Большой полипептид представляет вирионную РНК-полимеразу. Обнаружен также ковалентно связанный с геномом полипептид VPg, возможно играющий важную роль в репликации генома на стадии инициации [88].

Вирионы обладают РНК-зависимой РНК-полимеразной активностью, которая *in vitro* проявляется без предварительной обработки вирионов. Оптимум этой активности отмечают при температуре 30°C , pH 8,05 и при наличии 6 мМ Mg^{2+} . Считают, что репликация РНК вируса ИПН происходит по полуконсервативному способу, с отделением матрицы [178].

Вирус ИПН устойчив к действию эфира и хлороформа, стабилен к ультразвуковой обработке, что позволяет высвободить его из инфицированных клеток. Он выдерживает нагревание при 44°C в течение 15 мин, но как правило инактивируется при 60-минутном прогревании при температуре 60°C . Разрушается также при pH среды 3,0 или 10,0. Высушенный на воздухе, вирус остается инфекционным в течение двух недель при температуре $15-22^\circ\text{C}$. Замороженный при -20°C , он сохраняется длительное время, а в 50%-ном растворе глицерина — около 5 лет.

В речной воде при 10°C вирус сохраняется более 231 дня, а в иловых осадках пруда при pH 6,79 и температуре 4°C — более 210 дней. Ультрафиолетовые лучи полностью инактивируют его за 60 мин., а гамма-излучение — примерно на 90%. 2%-ный раствор едкого натра и 3%-ный раствор формалина разрушают вирус за 5-10 мин. На активность вируса не

оказывают никакого действия метиленовый синий (20 мг/л), малахитовая зелень (10 мг/л), бензалкониум-хлорид (1%) и сернокислая медь (100 мг/л) [46].

Возбудитель ИПН антигенно неоднороден. Известные три серотипа вируса (VR 299, Ab и Sp) различаются между собой как по физико-химическим (размер РНК, масса и состав белков), так и по фенотипическим свойствам (размер и морфология бляшек, круг хозяев, естественная температурная чувствительность), тем не менее они дают перекрестные иммунологические реакции и являются, таким образом, близкородственными [167, 189]. Однако выделяются новые серотипы вируса [168].

Гемагглютинирующую активность вируса ИПН испытывали с эритроцитами 14 видов животных и человека. Вирус постоянно агглютинировал только эритроциты мышей линий Balb/c и Манчестер. Реакция протекала при температуре 4 и 22°C при оптимуме рН 5,75 и 6,0. В некоторых случаях получали положительную агглютинацию с эритроцитами крыс, однако реакция зависела от индивидуальных особенностей этих животных [79].

Вирус реплицируется во многих первично трипсинизированных культурах и перевиваемых линиях клеток рыб разных семейств. Выделение вируса от рыб возможно в линиях клеток RTG-2, PG, BF -2, CHSE -214, STE -137 и FHM. При температуре инкубации 22°C и рН среды 7,3-7,6 однократный цикл репликации составляет 16-20 час. [88]. Размножение вируса в культуре клеток RTG-2 возможно в диапазоне температур от 4 до 26°C. Цитопатическое действие характеризуется веретенообразной дегенерацией клеток монослоя, а накопление вируса в тканевокультуральной жидкости достигает $10^{8,5}$ ТПД/мл.

В отдельных культурах клеток, например, в CHSE -214, возникает длительная персистентная инфекция вирусом ИПН [43, 145], при которой происходит постоянное выделение вируса в культуральную среду и накопление его до 10^6 БОЕ/мл. При пассировании этих клеток в присутствии иммунсыворотки против ИПН в течение 54 дней наступает полное "излечение" клеток и потеря их способности выделять вирус. Полагают, что персистенция поддерживается дефектными интерферирующими частицами [146], однако в персистентно инфицированных культурах выявить интерферон не удалось [123].

Применяют изучение свойств вируса ИПН методом бляшек с использованием различных покрытий. Заслуживает внимания метод покрытия монослоя клеток холоднокровных животных с ис-

пользованием агарозы, формирующей гель при низких температурах (SeaPrep 15/45). На зараженный вирусом ИПН слой клеток гонад радужной форели наносят 1%-ную агарозу в среде Игла-MEM без сыворотки, оставляют на 30 мин при температуре 40°C, а затем инкубируют до появления бляшек. После этого клеточный слой фиксируют формальдегидом в течение 15 мин и окрашивают. Данный метод позволяет получать гладкий слой агарозы без риска термальных повреждений клеток [165].

В культурах клеток теплокровных животных вирус ИПН не размножается.

Эпизоотология. Инфекционным некрозом поджелудочной железы болеют американская паляя, радужная форель, кумжа, кижуч, атлантический лосось, форель Кларка, лосось амаго (*Oncorhynchus rhodurus*). Вирус выделяли от клинически здоровых и больных щуки, плотвы, окуни, миноги, леща, карпа, чукучана, хариуса, манхедена, усача, европейского угря, а также от некоторых морских беспозвоночных животных [39, 42, 124, 128, 135, 255, 256, 257, 280]. У рыб-вирусоносителей количество вируса во внутренних органах, желудке и кишечнике, фекалиях, сперме и овариальной жидкости может достигать 10^6 ПД₅₀/г ткани. Распространение вирусоносительства может быть значительным. Так, при исследовании прудовых хозяйств Великобритании вирус установлен в 17% случаев, однако у диких рыб выявить вирус не удалось [70].

Кроме восприимчивых рыб возможно искусственное заражение японских лососей нимемасу и ямама, а также аквариумной рыбы *Brachidanio rerio*, которая после этого передает вирус через икру в течение короткого периода времени [246].

Инфекционный некроз поджелудочной железы возникает среди молоди лососевых рыб после перехода на искусственное питание. Болезнь чаще возникает при температуре воды 12-14°C, но может быть и при другой температуре воды.

Так, экспериментально установлено, что при температуре воды 10°C гибель мальков тем меньше, чем больше их возраст, и в 20-недельном возрасте у них не возникает клинических признаков ИПН. Гибель рыбы задерживается при температуре 6°C и снижается или прекращается при температуре 16°C. При повышении температуры воды с 10 до 16°C перед заражением гибель мальков также уменьшается, но при понижении температуры с 16 до 10°C она не изменяется. Результаты

опыта с мальками, полученными от одних и тех же родителей и содержавшимися до заражения при разных температурах, показали на обратную связь между количеством градусо-дней инкубации икры и чувствительностью рыбы к заражению вирусом [92]. Существует горизонтальная и вертикальная передача инфекции. Имеются также различия в восприимчивости рыб, выращенных в разных хозяйствах. Так же неодинакова вирулентность изолятов. Например, штамм ИПН, выделенный от щуки (*Esox niger*), был менее патогенным, чем штаммы, изолированные от лососевых рыб [251].

Гибель молоди рыб колеблется от 10 до 90%. Более старшие и половозрелые рыбы не болеют, но становятся вирусоносителями на длительный срок [239]. Они заражают потомство через икру, а также выделяют вирус через кишечник. В результате вода может содержать до 25 тыс./л инфицирующих доз вируса. Разработан метод обнаружения вируса, который позволяет улавливать до одной инфицирующей единицы вируса в 1 л воды [12].

Таким образом, источником вируса ИПН являются больные и погибшие рыбы, вирусоносители, их выделения и икра. Вирус передается через воду и инвентарь.

Течение и симптомы. Инкубационный период при температуре воды 12–13°C равен 6–10 дням. Болезнь протекает остро, с высокой смертностью молоди [90].

Первым признаком заболевания является увеличение отхода рыбы. Клинические признаки не яркие: отмечают судорожные движения рыб по спирали вокруг продольной оси тела, но в большинстве случаев они лежат на дне бассейна, слабо двигая жабрами. Большая рыба чернеет, развивается экзофтальмия, брюшко растягивается, стенка его гиперемирована.

Патологоанатомические изменения. Во внутренних органах отмечают множественные петехиальные кровоизлияния. Печень и селезенка бледные, желчный пузырь растянут скопившейся желчью. В пищеварительном тракте корма нет; вместо него желудок и передняя часть кишечника заполнены прозрачной или молочной слизью.

При гистологическом исследовании в поджелудочной железе находят некрозы и цитоплазматические включения в экзокринных и ацинарных клетках. В почках регистрируют дегенеративные изменения и скопления макрофагов.

Патогенез в последнее время изучали как на высоко восприимчивых палии и радужной форели, так и на слабо чувствительном атлантическом лососе [259, 260].

Существует определенная связь между количеством вируса инфекционного некроза поджелудочной железы в зараженных мальках радужной форели и развитием болезни. Так, мальков радужной форели заразили вирусом через 44 дня после первого кормления путем выдерживания в течение 1 ч в воде, содержащей $104,7$ ТЦД₅₀/мл вируса. Через определенные промежутки времени проводили количественное определение вируса в пробах мальков и наблюдали развитие симптомов. Признаки заболевания появились на 5-й день, а гибель началась на 6-й день после заражения. Количество вируса во время инкубационного периода было равно или меньше $104,1$ ТЦД₅₀/г, при появлении болезни — $105,1$ ТЦД₅₀/г, а гибель зараженных мальков наступала при таком же количестве вируса или несколько больше [313].

При внутрибрюшинном введении вируса ИПН (2×10^6 ТЦД₅₀) он определяется через 2 дня в пищеварительных органах и почках, а позднее также в селезенке. Он поражает вначале экзокринные, а затем большинство ацинарных клеток поджелудочной железы, где происходит экстенсивная его репликация. Остаются непораженными лишь небольшие гнезда ацинарных клеток. Вирусный антиген и слабые патологические изменения находят также в интерстициальных клетках почек и в печени.

При введении вируса 8-недельным малькам атлантического лосося с кормом он появляется в тканях через 3 дня, достигает максимума через 8 дней (105^5 ТЦД₅₀/0,2 мл), и сохраняется до 78-го дня ($10^{1,13}$ ТЦД₅₀/0,2 мл), но патологических изменений у рыб не вызывает. При внутрибрюшинном введении годовикам лосося, вирус вызывает дегенеративные изменения ацинарной ткани поджелудочной железы, а также фокусные некрозы в печени, но персистирует также в почках и селезенке.

Вирусоносительство связывают также с репликацией вируса в клетках крови [261, 291]. Он не выделяется из эритроцитов рыб, но обнаруживается в моноцитах 75–86,7% зараженных рыб. Выход вируса из клетки достигает 400 БОЕ.

Таким образом, вирус ИПН может проникать в организм рыб не только через жабры, но и через пищеварительный тракт. Всосавшись в кровь, он в первую очередь поражает поджелудочную железу, некрозы в которой обуславливают признаки желудочно-кишечных и нервных расстройств.

Диагноз устанавливают на основании клинических признаков и патологоанатомических изменений у больных рыб с учетом эпизоотологических данных, а также гистологического об-

наружения телец-включений в поджелудочной железе. Для постановки окончательного диагноза необходимо выделить вирус в культуре клеток и идентифицировать его в реакции нейтрализации.

В последнее время проведена значительная работа по разработке экспрессных методов диагностики ИПН и надежных способов выделения вируса. Предложены прямой и непрямой методы флуоресцирующих антител [238, 258]. Разработан энзиматический иммуносорбентный метод идентификации вируса ИПН (ELISA), чувствительность которого составляет $10^{5,6}$ ТИД₅₀/мл [188]. Обращается внимание на то, что наиболее высокая репродукция вируса в культурах клеток происходит при температуре 20°C. При повышении температуры с 20 до 25°C продукция вируса полностью подавляется, и этот феномен объясняется множественной природой термочувствительности (t_s) вируса, связанной с отдельными звеньями синтеза возбудителя на разных этапах репродукции [216].

С целью повышения чувствительности метода выделения вируса ИПН от радужных форелей-вирусоносителей разработан так называемый метод сокультивирования. Он заключается в том, что вместо гомогенатов тканей от подозреваемых в вирусоносительстве рыб берут клетки трипсинизированных почек, поджелудочной железы и кишечника, которые высевают в сосуды совместно с клетками линии RTG -2. При наличии даже незначительных количеств вируса у вирусоносителей в индикаторных клетках RTG -2 развиваются цитопатические изменения. Авторы считают, что этот метод почти вдвое эффективнее обычных способов, а одновременное внесение озвученных гомогенатов или фильтратов тканей подозреваемых в вирусоносительстве рыб повышает его чувствительность [50].

Иммунитет и средства специфической профилактики. У переболевших рыб и вирусоносителей устанавливают вируснейтрализующие антитела. В то же время у рыб отмечают длительное вирусоносительство - 10 мес и более. Наличие антител использовали для серодиагностики ИПН у сигов из естественных водоемов [78].

В сыворотке здоровой радужной форели обнаружена фракция протеинов (6S), которая может подавлять патогенность вируса ИПН. Попытки использовать это явление и получить аттенуированные штаммы для иммунизации рыб успеха не имели [128]. Непатогенные штаммы вируса ИПН не обладают иммуногенными свойствами [89]. Поэтому проводились работы по приготовлению и испытанию инактивированных вакцин,

В опытах на радужной форели массой 500–800 г. использовали убитый формалином вирус ИПН. Рыбам вводили внутривентриально 0,5 мл концентрированной формолвакцины (109,8–1010,3 ТЦД₅₀/мл) с 0,5 мл неполного адьюванта Фрейнда, а затем через разные промежутки времени – 0,5 мл вируса без адьюванта. Через 3–4 мес рыб заражали внутривенно гомологичным вирусом (106,0 ТЦД₅₀/мл). Результаты этого опыта показали, что концентрированная формолвакцина вызывала более сильную иммунную реакцию, чем неконцентрированная: рыбы с титром антител в сыворотке более 10^{3,0} НД₅₀ могли нейтрализовать 106,0 ТЦД₅₀/мл вируса. Введенный вирус не удавалось реизолировать из почек и селезенки рыб, имевших более 10^{3,0} НД₅₀, тогда как этот вирус реизолировали из названных органов рыб, содержащих в крови менее 10^{3,0} НД₅₀ вируснейтрализующих антител [234].

В опытах на 4–8-недельных мальках радужной форели испытывали действие инактивированных и живой вакцин, приготовленных различными способами [129]. Их вводили интравентриально, методами гиперосмотической инфльтрации или простого погружения в раствор вакцины. При контрольном заражении мальков выдерживали в течение 3–5 ч в воде, содержащей 10^{4,0} БОЕ/мл вирулентного вируса. Результаты вакцинации оценивали по количеству рыб, погибших в течение 35 дней после контрольного заражения. При заражении рыб после вакцинации живым авирулентным штаммом вируса ИПН методом простого погружения погибло 55%, путем гиперосмотической инфльтрации – 32%, а среди невакцинированных контрольных – 67% рыб. Вакцина, инактивированная бета-пропиолактоном, введенная интравентриально, приводила к уменьшению гибели мальков на 20% ниже по сравнению с контролем. При гиперосмотической инфльтрации этой вакцины выживал 81% подопытных рыб против 57% в контроле. Вакцины из разрушенного вируса (для этой цели использовали додецилсульфат натрия, мочевины, уксусную кислоту и 2-меркаптоэтанол в разных сочетаниях) давали более стабильные, но невысокие результаты. Так, при гиперосмотической инфльтрации гибель рыб после контрольного заражения составила: разрушенный концентрированный вирус – 58%; инактивированный бета-пропиолактоном сырой вирус – 65%, а концентрированный вирус – 75%; невакцинированные рыбы – 67%.

Изучая механизм инактивирования вируса ИПН, установили, что формалин в разведении 1:200 при температуре 20°C вы-

зывает полное подавление инфекционной активности через 4 дня, а бета-пропиолактон 1:250 при температуре 40°C — через 6 дней. При этом бета-пропиолактон снижает антигенность вируса более чем на 50%, тогда как формалин слабо изменяет антигенные свойства вируса ИПН, и формолвакцина является иммуногенной для радужной форели: через 8 нед. после иммунизации в сыворотке крови рыб устанавливаются вируснейтрализующие антитела в титре 1:2500 — 1:6000 [87].

Приведенные данные свидетельствуют о возможности использования инаktivированных вакцин для профилактики инфекционного некроза поджелудочной железы у рыб, однако необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

Лечение ИПН не разработано. Испытание ряда химиопрепаратов при ИПН, в том числе виразола (1-Д-рибофлуоранозил-1, 2,4-триазол-3-карбоксамид), йодистого калия и др., не дало положительных результатов [90, 179, 186, 235]. Виразол в концентрации 10 мкг/мл подавляет репродукцию вируса ИПН в культурах клеток RTG-2 и CHSE-214 на 2-4 порядка, однако при испытании на 6-недельных мальках радужной форели, зараженных этим вирусом, он не снижал гибели подопытных рыб в концентрациях до 400 мкг/мл.

14. Вирус нотемигонуса

Вирус нотемигонуса (golden shiner virus, GSV) впервые выделен в США летом 1977 г. из рыбы *Notemigonus crysoleucas*. Данные о вызываемом им заболевании ограничены. Известно, что инфекция рыб в естественных условиях отмечается в конце лета — начале осени, когда температура воды обычно превышает 25°C [205].

По своим морфологическим и биохимическим свойствам вирус нотемигонуса сходен с возбудителем инфекционного некроза поджелудочной железы, однако отличается от него по антигенным свойствам и характеру ЦПД на культуру клеток FHM [243]. Он устойчив к действию эфира, pH среды 3,0 и 10,0 и прогреванию при температуре 50°C.

Вирус имеет икосаэдрическую симметрию, не имеет внешней оболочки, его диаметр равен 70 нм. Наличие двухцепочечной РНК, но отсутствие четкой двухкапсидной структуры позволяет лишь предполагать, что он относится к реовирусам.

Изучена динамика роста вируса в культуре клеток FHM [244]. При температуре 35°C и множественности заражения 56 ЦПД₅₀/клетку адсорбировалось 36 ЦПД₅₀/клетку, а ЦПД проявлялось

через 96 ч в виде округления и отпадения клеток от стекла. При температурах 30 и 25°C и аналогичной множественности заражения адсорбировалось 45 ТПД₅₀/клетку. Цитопатическое действие отмечалось через 8–10 ч после заражения, оно развивалось быстро, охватывая все клетки монослоя, и общая продукция вируса через 36–48 ч составляла $10^{7,0} = 10^{7,6}$ ТПД₅₀/мл (113 инфицирующих единиц на клетку). При температурах 20 и 15°C адсорбировалось 92 ТПД₅₀ вируса на клетку, первые признаки ЦПД отмечали через 40 ч после заражения, а максимальный титр вируса наступал через 48 ч и составлял $10^{7,0}$ ТПД₅₀/мл. При температуре 15°C ЦПД и увеличение титра не отмечались в течение 96 ч наблюдения культур после заражения. Таким образом, оптимальной для развития вируса в клеточной культуре является температура около 30°C, при которой латентный период составляет 8 ч, а накопление вируса является максимальным. Завершение ЦПД совпадает с наибольшим выделением вируса из клетки.

Инфекционность вируса длительно сохраняется при температурах 4° и -70°C; при 20°C она теряется через 148 дней, а при 30°C – в течение 7 дней.

Экспериментально изучали соотношение между плотностью популяции рыб и распространением среди них вируса нотемигонуса [244].

В сентябре 1979 г. из естественного водоема выловили 750 экз. нотемигонуса средней массой 5 г, которых поместили в два бассейна емкостью 200 л из расчета 6,25 и 12,5 г/рыбы на 1 л воды. Температура поддерживалась на уровне 25–28°C. Через 48, 96 и 144 ч исследовали по 10 рыб из каждого бассейна. Среди рыб из бассейна с низкой плотностью посадки постоянно отмечали менее 10% зараженных вирусом рыб, тогда как среди рыб из бассейна с высокой плотностью посадки количество инфицированных рыб через 48, 96 и 144 ч составляло 50, 33 и 10% соответственно. У исследованных рыб ни в одном случае не выделяли паразитов и бактерий.

Данное исследование указывает на высокий уровень инфекции среди молоди нотемигонуса.

15. Другие вирусы и микроорганизмы

Вирус ушастого окуня обнаружен в спонтанно инфицированной клеточной культуре и является "сиротским" [80]. Его от-

носят к рибовирусам с нитью РНК положительной полярности. Различают два типа вирусных частиц: сферические диаметром 80–95 нм и плеоморфные диаметром 115–130 нм. Нуклеокапсид имеет нитевидную структуру диаметром 15 ± 2 нм и шагом симметрии 10 нм. Предполагают, что основным механизмом выделения вируса из клетки является экзоцитоз [63].

Репликационный цикл длительный, максимальные титры вируса наступают через 48 ч после заражения и инкубации при температуре 21°C. Он чувствителен к ультрафиолетовому облучению, эфиру и нестабилен при кислых pH. Не обладает нейраминидазной, гемагглютинирующей, а также РНК-полимеразной активностью [59, 220]. Методом электрофореза в ПААГ установлена молекулярная масса РНК, равная $2,7 \times 10^6$ Д, ее плавающая плотность составляет 1,69 г/см³. Состав оснований следующий: 14,89% цитозина, 12,77% аденина, 37,03% урацила и 35,23% гуанина. Эти показатели соответствуют одноцепочечной РНК [219].

Вирус ушастого окуня реплицируется в культурах клеток ушастого окуня (BF-2), радужной форели (RTG-2) и черного большеротого окуня. В 5–7-дневных культурах клеток его можно титровать как по конечной 50%-ной цитопатической дозе, так и методом бляшек. В качестве покрытия следует использовать 1%-ную метилцеллюлозу. Видимые бляшки размером 0,5–1,0 мм появляются через 7 дн после заражения, и титр вируса оценивается в 6,46 раз выше, чем по цитопатическому эффекту. Дозо-зависимые исследования показали, что формирование бляшки обуславливает одна вирусная частица [221].

Оспа. Наиболее полные данные о наличии вирусных частиц в оспенных поражениях карпов ранее представил G. Schubert [240, 241]. Обнаруженные частицы он отнес к герпесвирусам. В ядрах клеток они имели круглую или овальную форму, однослойную оболочку и диаметр около 100 нм, а в цитоплазме-двухслойную оболочку и размер 140 нм. До сих пор не появились сообщения о выделении оспенного вируса в культурах клеток. Однако электронно-микроскопически подтверждено наличие частиц вируса герпеса в гиперплазированных клетках, а также установлены ацидофильные включения в клетках мальпигиева слоя кожи и эпителия [210].

Оспоподобные изменения эпидермиса кожи наблюдали также у сомов, выращиваемых в садках. Было поражено две трети популяции рыб, а гибель за зимний период составила примерно 50%. В цитоплазме измененных эпителиальных клеток были об-

наружены ацидофильные тельца-включения, а при электронной микроскопии ультратонких срезов таких клеток – герпесоподобные вирусные частицы в ядрах (85–90 нм) и цитоплазме (145–160 нм) [60].

Гиперплазия эпидермиса кожи отмечается часто у разных видов рыб, а у молоди атлантического лосося она имеет довольно широкое распространение в виде эпидермальной папилломы на ряде рыбзаводов Скандинавских и других стран [72]. Их этиология остается невыясненной, однако у больной трески обнаружены частицы, сходные с аденовирусом, размером 77 нм. Они располагались в ядрах клеток гиперплазированного эпителия, имели пяти-или шестиугольную форму и часто связывались с окружающей нуклеоплазмой тонкими волокнами длиной 20–25 нм [198].

Вирусоподобные частицы. При электронно-микроскопическом исследовании гемопоэтической ткани в селезенке одного самца фугу (*Fugu pardale*) массой около 80 г обнаружили мелкие некротические фокусы диаметром 20–40 мкм. В этих фокусах имелись большие макрофаги с 2–3 овальными гранулами и другие клетки с 2–3 вакуолями, в которых часто находили вирусоподобные частицы. Они имели электронно-плотное ядро диаметром 35–45 нм и оболочку толщиной 10–15 нм, а их общий диаметр составлял 60–75 нм [272].

В клетках генетически возникшей меланомы меченогоца установлены вирусоподобные частицы размером 40–50 нм. Они были обнаружены после лечения рыбы 5-бромдезоксигуанином [160].

Описан вирус-2 карася. Он усиливает свою репликацию под действием пестицидов карбарила и токсафена. Так, при добавлении в среду 1, 5 или 10 мкл/л 1-нафтола (продукта гидролиза карбарила) репликация вируса в культуре клеток САР увеличивается в 2,3; 3,7 и 7,1 раза соответственно, при этом препарат не оказывает цитотоксического действия на клетки [247, 248].

Риккетсии наблюдали в срезах органов больной радужной форели, а также в культурах клеток RTG-2, инфицированных экстрактами органов от этих рыб. Одновременно от форели был выделен возбудитель вирусной геморрагической септицемии. Роль риккетсий в течение вирусной инфекции и гибели радужной форели осталась невыясненной [196].

Неидентифицированная микоплазма выделена из культуры клеток атлантического лосося AS [97]. В культуре клеток RTG-2 эта микоплазма не вызывала заметных цитопатичес-

ких изменений, тогда как известная *Acholeplasma laidlawii* приводила к увеличению зернистости клеток и их деструкции. С помощью сканирующего микроскопа в зараженных культурах клеток RTG-2 и AS наблюдали типичные микоплазмы, расположенные на поверхности клеток, и изменение топографии клеток (потерю микроволокон, исчезновение отростков клеток). Репликация вирусов инфекционного некроза поджелудочной железы и инфекционного некроза гемопоэтической ткани в контаминированных *A. laidlawii* культурах клеток RTG-2 была в 2-100 раз выше, чем в незараженных культурах.

1.6. Профилактика и меры борьбы с вирусными болезнями рыб

При вирусных болезнях рыб отсутствуют средства и способы медикаментозного лечения. В стадии разработки находятся способы специфической профилактики, поэтому основным инструментом являются общие профилактические мероприятия и меры борьбы с вирусными болезнями рыб, как и с другими массовыми заболеваниями рыб [6].

Профилактические мероприятия направлены на недопущение попадания возбудителя болезни в водоемы благополучного хозяйства, создание благоприятных условий выращивания рыб (обеспечение оптимальных гидрохимического и гидрологического режимов, недопущение загрязнения воды и т.п.), повышение физиологической резистентности к возбудителям заразных болезней путем кормления рыб сбалансированными по питательным веществам, витаминам и микроэлементам кормами и снятие стрессовых воздействий при манипуляциях, перевозках и в других случаях, а также санирование мест обитания рыб путем периодической очистки и дезинфекции в рыбоводных хозяйствах.

Важным звеном является эпизоотическое обследование хозяйств и своевременная диагностика вирусных болезней рыб. При установлении массовых вирусных болезней в неблагополучных хозяйствах проводят карантин и соответствующие мероприятия по их оздоровлению [56, 171].

Оздоровление рыбоводных хозяйств от вирусной геморрагической септицемии основывается на уничтожении источника вируса и создании нового стада радужной форели, свободного от вируса. Достижение таких результатов возможно при условии быстрой диагностики болезни и обследования больших количеств рыб, а также при охране благополучных или оздоровлен-

ных хозяйств от заражения [119]. Такие жесткие меры необходимы в связи с довольно широким распространением ВГС в Европе [47]. Так, в Италии полагают, что потери от этой болезни составляют в среднем 30% продукции форелеводства [120]. Отмечается, что в отдельных регионах к заболеванию наиболее восприимчивы двухлетки радужной форели [193]. Строгие мероприятия по специально разработанной программе в Дании позволяют оздоравливать неблагополучные по ВГС хозяйства, и в 1980 г. 385 из 530 ферм были свободными от этой болезни [141]. В нашей стране также предусмотрены строгие карантинные меры: уничтожение всей неблагополучной рыбы; тщательная дезинфекция прудов, бассейнов, помещений, транспорта, тары и других предметов с последующим завозом благополучной живой рыбы или икры для целей разведения. Карантин снимается и хозяйство объявляется благополучным в том случае, если в течение 12 месяцев наблюдения у завезенных рыб не отмечалось клинических признаков и патологоанатомических изменений, свойственных для ВГС, а двукратное вирусологическое исследование дало отрицательный результат.

При появлении инфекционного некроза поджелудочной железы или инфекционного некроза гемопоэтической ткани также проводятся строгие карантинные мероприятия. В первичных очагах ликвидируют всю рыбу в хозяйстве; проводят общую дезинфекцию и завозят новую благополучную рыбу. В последующих очагах молодь выращивают изолированно по возрастным группам, за всей рыбой устанавливают тщательное ветеринарное наблюдение. При появлении клинических признаков болезни среди молодежи в том или ином бассейне уничтожают в нем всю рыбу, а трупы рыб сжигают или закапывают вдали от водоемов на глубину 1,5 м с предварительной обработкой негашеной или хлорной известью. Регулярно проводят очистку и текущую дезинфекцию бассейнов, прудов, помещений и инвентаря негашеной известью ($0,5 \text{ кг/м}^2$), 2%-ным раствором едкого натра или 2%-ным раствором формалина.

При установлении вирусного бранхионекроза в хозяйстве проводят карантин, по условиям которого запрещают вывоз и ввоз рыбы для воспроизводства и выращивания. Товарную рыбу вывозят непосредственно в торговую сеть, а воду, в которой ее перевозили, обеззараживают хлорной известью или едким натром и спускают в канализационную сеть. Не допускают смешанновозрастной посадки рыбы, дезинфицируют рыбоводный инвентарь и т.п. Оздоровление неблагополучных хозяйств проводят комплексным методом с применением всех необходи-

мых ветеринарно-санитарных и рыбоводно-мелиоративных мероприятий [14].

В предупреждении распространения весенней вирусной болезни важное значение имеет своевременный и точный диагноз. При его установлении объявляют карантин. Оздоровление возможно путем замкнутого выращивания рыбы, что в течение 3-5 лет приводит к прекращению заболевания и отходов в связи с образованием иммунного к ВВБ стада рыб. В замкнутом хозяйстве строго проводят ветеринарно-санитарные и рыбоводно-мелиоративные мероприятия, при этом устанавливают постоянное ветеринарное наблюдение за рыбами всех видов и возрастных групп, тщательно выполняют дезинфекционные работы. С целью предупреждения отходов рыб от смешанных инфекций (аэромоноз, псевдомоноз) во время вспышек ВВБ проводят лечебное кормление рыб соответствующими медикаментозными средствами.

При других вирусных болезнях меры профилактики и борьбы не разработаны или их проведение невозможно (вирусный некроз эритроцитов и др.).

Для лечения герпесвирусной болезни лососевых рыб испытаны йоддезоксигуанидин и 9-(2-гидроксил)-гуанин (ацикловир). Раствор последнего в концентрации 25 мкг/мл уменьшал гибель при погружении зараженных рыб в ванны на 30 мин/день в течение 15 дней, но был не эффективным при многократных дачах с кормом [148].

Анализ литературы показывает, что профилактика, лечение и меры борьбы с вирусными болезнями рыб разработаны недостаточно. Однако учитывая экономическое значение этих болезней, предлагается разрабатывать и проводить эти мероприятия как на национальном, так и международном уровне [119].

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашурова М., Эгамов М. - Ахбороти Акад. Фанхон РСС Тоҷикистон, Шуъбан фанхон биол., Изв. АН Тадж ССР. Отд. биол. н., 1981, № 1, с. 198-210.
2. Боговский С. - Изв. АН ЭССР. Биол., 1982, 31, № 4, с. 310-312.
3. Головнев Л.Н. - Тезисы докладов к семинару "О новых и передовых методах борьбы с болезнями рыб в рыбоводных хозяйствах Минрыбхоза СССР" (Москва, 23-27 октября 1977 г.) М., 1977, с. 40-42.

4. Головнев Л.Н., Екельчик Р.З. - В сб.: Основы биопро-
дуктивности внутренних водоемов Прибалтики, Вильнюс,
1975, с. 406-407.
5. Грищенко Л.И. - Всес. совещание "Новые методы лечения
инфекционных болезней рыб" (II Всес. симпозиум по бол.
рыб). 29-31 октября 1975 г. Тезисы докладов. М.,
1975, с. 26-27.
6. Канаев А.И. Ветеринарная санитария в рыбоводстве. М.,
Колос, 1973, с. 71-95.
7. Леоненко Е.П. - Сб. науч. тр. ВНИИ пруд. рыб. х-ва,
1981, № 32, с. 49-64.
8. Линник В.Я., Мамыш Т.И. - Ветеринарная наука-производ-
ству (Труды БелНИВИ, т. 11). Минск, Ураджай, 1973,
с. 146-155.
9. Линник В.Я., Мамыш Т.И., Лаговская В.С. - I Всес.
симпозиум по инф. бол. рыб. 16-19 мая 1972 г. Тезисы
докладов. М., 1972, с. 65-67.
10. Лобунцов К.А., Рудиков Н.И. - I Всес. симпозиум по инф.
бол. рыб. 16-19 мая 1972 г. Тезисы докладов. М.,
1972, с. 27-30.
11. Лобунцов К.А., Рудиков Н.И. - Проблемы инфекционной
патологии сельскохозяйственных животных. Труды Всес.
НИИ эксперимент. ветеринарии, т. 49, 1979, с. 146-
153.
12. Мамыш Т.И., Линник В.Я. - Бюл. Всес. ин-та эксперим.
вет., 1975, вып. 20, с. 33-36.
13. Мохие Эль-Саид Исса. - Ветеринария, 1979, № 8,
с. 35-36.
14. Мусселиус В.А. Жаберный некроз карпа. Fish, Pathog. and
Environ. Eur. Polycult., Budapest, 1984, с. 449-460.
15. Наконечная М.Г. - Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ,
сер. Рыбохоз. использование внутр. водоемов, 1981,
вып. 10, с. 3-6.
16. Наконечная М.Г. - Всес. совещание. "Организ. меропр-
ятий по борьбе с инф. бол. рыб" (IV Всес. симпозиум
по инф. бол. рыб). 12-16 октября 1981 г. М., 1981,
с. 51-52.
18. Наконечная М.Г. - Рыб. х-во (Киев), 1983, № 36,
с. 62-64.
19. Наконечная М.Г., Руденко А.П., Жибловская М.И. - Ос-
воение теплых вод энергетических объектов для интенсив-
ного рыбоводства. Материалы Респ. науч. конф., Киев,
1980. Киев, 1981, с. 423-425.

20. Осадчая Е.Ф. - А.с. № 649380 СССР, заявл. 09.06.77, № 2496750/28-13, опубл. 28.02.79 в Б.И. № 8.
21. Осадчая Е.Ф., Наконечная М.Г. - VII Всес. совещание по паразитам и болезням рыб. Тезисы докладов. Л., 1979, с. 76-78.
22. Осадчая Е.Ф., Наконечная М.Г. - Вопр. ихтиологии, 1981, 21, № 3, с. 547-555.
23. Осадчая Е.Ф., Наконечная М.Г., Литвиненко В.В. - Сб. науч. тр. ВНИИ пруд. рыб. х-ва. Болезни рыб и водная токсикология, вып. 32, М., 1981, с. 15-24.
24. Осадчая Е.Ф., Наконечная М.Г., Рогожкина В.Л. - Сб. науч. тр. ВНИИ пруд. рыб. х-ва. Болезни рыб и водная токсикология, вып. 32, М., 1981, с. 3-14.
25. Осадчая Е.Ф., Просяная В.В. - Рыб. х-во (Киев), 1974, вып. 19, с. 104-107.
26. Осадчая Е.Ф., Просяная В.В. - Всес. совещание "Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб" (IV Всес. симпозиум по инф. бол. рыб) 12-16 октября 1981 г. М., 1981, с. 55-56.
27. Попкова Т.И., Щелкунов И.С. - Рыб. х-во (Москва), 1978, № 4, с. 34-38.
28. Рудиков Н.И. - I Всес. симпозиум по инф. бол. рыб 16-19 мая 1972 г. Тезисы докладов. М., 1972, с. 62-65.
29. Рудиков Н.И. - Ветеринария, 1975, № 6, с. 64-66.
30. Roudikov N.I. - Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9-10, p. 1069-1077.
31. Рудиков Н.И., Грищенко Л.И., Лобунцов К.А. - Бюл. Всес. ин-та эксперим. вет., 1975, вып. 20, с. 16-19.
32. Сталовіч В.М., Галаўнеў Л.М. - Весці АН БССР. Сер. біял. н., 1983, № 2, с. 94-97.
33. Черняк В.З., Гусева Н.В. - Сб. работ Ленингр. вет. ин-т, 1957, вып. 16, с. 161-164.
34. Щелкунов И.С. В кн.: Биологические основы рыбоводства: паразиты и болезни рыб. М., Наука, 1984, с. 209-220.
35. Shchelkunov I.S., Shchelkunova T.I. - Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult., Budapest, 1984, p. 31-43.
36. Щелкунова Т.И., Щелкунов И.С. - VII Всес. совещание по паразитам и бол. рыб. Тезисы докладов. Л., 1979, с. 118-119.
37. Щелкунов И.С., Юхименко Л.Н., Щелкунова Т.И., Тромбицкий И.Д., Манчу А.П. - Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ, сер. Рыбохозяйственное использование внутренних водоемов, 1984, вып. 4, с. 3-7.

38. Ahne W. — Arch. Virol., 1975, 48, № 2, p. 181–185.
39. Ahne W. — Bull. Office int. epizoot., 1977, 87, № 5–6, p. 417–418.
40. Ahne W. — Arch. Virol., 1978, 58, № 1, p. 65–69.
41. Ahne W. — Ber. 13 Kongr. Dtsch. veterinärmed. Ges., Bad Neuheim, 1979, Berlin–Hamburg, 1980; S. 180–183.
42. Ahne W. — Berlin. und münch. tierärztl. Wochenschr., 1980, 93, № 1, S. 14–16.
43. Ahne W. — Zbl. Bakteriол., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hygiene, I Abt. Orig. B, 246, № 3, S. 304–307.
44. Ahne W. — Tierärztliche. Umsch., 1980, 35, № 4, S. 225–229.
45. Ahne W. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W. Va., 1981, Basel e.a., 1981, p. 3–27.
46. Ahne W. — Zbl. Veterinärmed., 1982, B29, № 6, S. 457–476.
47. Ahne W. — Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult., Budapest, 1984, p. 3–15.
48. Ahne W., Mahnel H., Steinhagen P. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 6, p. 535–537.
49. Agius C., Johnson R.H., Mangunwiryo H., Smail D.A. — Ibid., № 4, p. 285–292.
50. Agius C., Richardson A., Walker W. — Ibid., 1983, 6, № 5, p. 477–480.
51. Amend D.F., Chambers V.C. — J. Fish. Res. Board Can., 1970, 27, № 7, p. 1285–1293.
52. Amend D.F., Chambers V.C. — Ibid., № 8, p. 1385–1388.
53. Amin O.M. — J. Fish Diseases, 1979, 2, № 3, p. 207–217.
54. Amlacher E., Rudolf C., Ude J., Eisengarten H.–J. — Arch. exp. Veterinärmed., 1982, 36, № 2, p. 193–201.
55. Amlacher E., Ude J., Rudolf C., Ernst G.–J. — J. Fish Diseases, 1980, 3, № 1, p. 55–62.
56. Badouy A.–M. — Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9–10, p. 995–1000.
57. Badouy A.–M. — Ann. virol., 1980, 131, № 4, p. 479–488.
58. Badouy A.–M. — Bull. Office int. epizoot., 1977, 87, № 5–6, p. 437–438.
59. Beckwith D.G., Malsberger R.G. — J. Gen. Virol., 1979, 43, № 3, p. 489–501.
60. Békési L., Kovács–Gayer E., Ratz F., Turkovics O. — Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult., Budapest, 1984, p. 25–30.
61. Bernard J. — 5th Int. Congr. of Virology, Abstracts. Strasbourg, France, August 2–7, 1981, p. 296.
62. Bernard J., Kinkelin P. de, Le Berre M.B. — Infect. and Immun., 1983, 39, № 1, p. 7–14.
63. Berthiaume L., Robin J., Alain R. — Can. J. Microbiol., 1982, 28, № 4, p. 398–402.

64. Bootsma R., Kinkelin P. de, Le Berre M. — J. Fish Biol., 1975, 7, № 2, p. 269–276.
65. Bootsma R., Vorstenbosch C.J.A.H.V. van. — Tijdschr. diergeneesk., 1973, 98, № 2, p. 86–90.
66. Bowser P.R., Plumb J.A. — J. Wildlife Diseases, 1980, 16, № 3, p. 451–454.
67. Bowser P.R., Plumb J.A. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1980, 37, № 5, p. 871–873.
68. Brunson M.W., Robinette H.R., Bowser P.R., Wellborn T.L. — Progr. Fish-Cult., 1983, 45, № 2, p. 119–120.
69. Bucke D., Finlay J. — Vet. Rec., 1979, 104, № 4, p. 69–71.
70. Bucke D., Finlay J., McGregor D., Seagrave C. — J. Fish Diseases, 1979, 2, № 6, p. 549–553.
71. Burke J., Mulcahy D. — Ibid., 1983, 6, № 6, p. 543–547.
72. Bylund G., Valtonen E.T., Niemela E. — Ibid., 1980, 3, № 6, p. 525–528.
73. Carlisle J.C., Schar K.A., Elston R. — Ibid., 1979, 2, № 6, p. 511–517.
74. Castric J., Kinkelin P. de. — Ibid., 1980, 3, № 1, p. 21–27.
75. Castric J., Rasschaert D., Bernard J. — Ann. virol., 1984, E135, № 1, p. 35–55.
76. Castric J., Tixerant G. — Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9–10, p. 1001–1003.
77. Cervinka S. — Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9–10, p. 979–987.
78. Chaubeau-Duffroux C., Morandi H. — Rev. méd. vét. (France), 1984, 135, № 6, p. 367–378.
79. Cleator G.M., Burney L.A. — Arch. Virol., 1980, 63, № 2, p. 81–85.
80. Clem L.W., Sigel M.M., Friis R.R. — Ann. N.Y. Acad. Sci., 1965, 126, № 1, p. 343–361.
81. Daoust P.-Y., Ferguson H.W. — Can. J. Comp. Med., 1983, 47, № 3, p. 358–362.
82. Darai G., Anders K., Koch H.-G., Delius H. et al. — Virology, 1983, 126, № 2, p. 466–479.
83. Darai G., Delius H., Koch H.G., Flugel R.M. — Zbl. Bakteriол., Mikrobiol. und Hygiene, 1983, Abt. 1A, 254, № 2, S. 155.
84. Darlington R.W., Trafford R., Wolf K. — Arch. gesamt. Virusforsch., 1972, 39, № 1–3, p. 257–264.
85. Delves-Broughton J., Fawell J.K., Woods D. — J. Fish Diseases, 1980, 3, № 3, p. 255–256.
86. Deys B.F. — Sublethal Eff. Toxic Chem. Aquatic Animals. Amsterdam e.a., 1975, p. 137–144.
87. Dixon P.F., Hill B.J. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 5, p. 399–409.

88. Dobos P., Roberts T.E. – Can. J. Microbiol., 1983, 29, № 4, p. 377–384.
89. Dorson M. – Bull. Cent. étud. et rech. sci. Biarritz, 1979, 12, № 3, p. 547–548.
90. Dorson M. – Bull. franç. piscicult., 1982, 54, № 285, p. 195–209.
91. Dorson M., Torchy C. – J. Fish Diseases, 1979, 2, № 4, p. 345–347.
92. Dorson M., Torchy C. – Ibid., 1981, 4, № 3, p. 213–221.
93. Dorson M., Torchy C., Chilmonczyk S., Kinkelin P. de et al. – Ibid., 1984, 7, № 3, p. 241–245.
94. Dorson M., Torchy C., Michel C. – Ann. rech. vét., 1979, 10, № 4, p. 529–534.
95. Egusa S. – Rapp. et proc. – verb. réun. Cons. int. explor. Mer, 1979, 174, p. 51–58.
96. Elger M., Hentschel H. – J. Fish Diseases, 1983, 6, № 3, p. 211–229.
97. Emerson M., Nicholson B.L., Bayer R. – Ibid., 1979, 2, № 3, p. 227–238.
98. Engelking H.M., Leong J.C. – Virology, 1981, 109, № 1, p. 47–58.
99. Enzmann P. – J. – Fish Biol. : Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W. Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 57–62.
100. Enzmann P. – J., Maier B. – Fisch und Umwelt, 1983, № 12, S. 13–21.
101. Enzmann P. – J. – Ibid., S. 23–28.
102. Evelyn T.P.T., Traxler G.S. – J. Fish. Res. Board Can., 1978, 35, № 6, p. 903–907.
103. Faisal M., Ahne W. – Zbl. Veterinärmed., 1983, B30, № 6, S. 466–470.
104. Faisal M., Ahne W. – J. Fish Diseases, 1984, 7, № 1, p. 57–64.
105. Farkas J., Oláh J. – Halaszat, 1982, 28, № 5, p. 134–137.
106. Fendrick J.L., Groberg W.J., Leong J.C. – J. Fish Diseases, 1982, 5, № 2, p. 87–95.
107. Flügel R.M., Darai G., Gelderblom H. – Virology, 1982, 122, № 1, p. 48–55.
108. Fijan N. – Bull. Office int. epizoot., 1968, 69, № 7–8, p. 1167–1168.
109. Fijan N. – Rev. sci. et techn. Off. int. épizoot., 1982, 1, № 4, p. 1193–1200.
110. Fijan N., Matašin Z., Jeney Z., Oláh J. et al. – Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult., Budapest, 1984, p. 17–24.
111. Fijan N., Petrinec Z., Stancl Z., Dorson M. et al. – Bull. Office int. epizoot., 1977, 87, № 5–6, p. 439–440.
112. Fijan N., Petrinec Z., Stancl Z., Kezić N. et al. – Ibid., p. 441–442.

113. Fijan N., Petrinec Z., Sulimanović D., Zwillenberg L.O. – Vet. arh., 1971, 41, № 5–6, p. 125–138.
114. Funahashi N. – Fish Pathol., 1980, 14, № 3, p. 107–115.
115. Georgiev G.S., Kamenov Y. – Докл. Болг. АН, 1980, 33, № 1, с. 143–146.
116. Георгиев Г.С., Каменов Й. – Ветеринарномед. науки, 1980, 17, № 1, с. 52–57.
117. Ghittino P. – Vet. ital., 1962, 13, № 5, p. 457–489.
118. Ghittino P. – Ann. N.Y. Acad. Sci., 1965, 126, № 1, p. 468–478.
119. Ghittino P., Fijan N., Kinkelin P. de. – Bull. Office int. epizoot. 1980, 92, № 9–10, p. 955–966.
120. Giorgetti G. – Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9–10, p. 1017–1024.
121. Grinnell B., Leong J.G. – J. Fish. Res. Board Can., 1979, 36, № 11, p. 1405–1408.
122. Grischkowsky R.S., Amend D.F. – Ibid., 1976, 33, № 1, p. 186–188.
123. Hedrick R.P., Fryer J.L. – Fish Pathol., 1982, 16, № 4, p. 163–172.
124. Hedrick R.P., Fryer J.L., Chen S.N., Kou G.H. – Ibid., 1983, 18, № 2, p. 91–97.
125. Hetrick F.M., Fryer J.L., Knittel M.D. – J. Fish Diseases, 1979, 2, № 3, p. 253–257.
126. Hetrick F.M., Knittel M.D., Fryer J.L. – Appl. environ. Microbiol., 1979, 37, № 2, p. 198–201.
127. Hetrick R.P., Okamoto N., Sano T., Fryer J.L. – J. Gen. Virol., 1983, 64, № 6, p. 1421–1426.
128. Hill B.J., Dixon P.F. – Bull. Office int. epizoot., 1977, 87, № 5–6, p. 425–427.
129. Hill B.J., Dorson M., Dixon P.F. – Fish Diseases Third COPRAG-Session, Berlin e.a., Springer-Verlag, 1980, p. 29–36.
130. Hille S. – Fisch und Umwelt, 1983, № 12, S. 29–37.
131. Hoffman G.L., Dunbar C.E., Wolf K., Zwillenberg L.O. – Antonie Leeuwenhoek J. Microbiol. and Serol., 1969, 35, № 2, p. 146–158.
132. Hoffmann R. – Beitr. Fischpathol. und – toxikol. Stuttgart–New York, 1980, S. 37–48.
133. Hoffmann R., Pfeil-Putzien C., Dangschat H., Vogt M. – Berlin und münchen tierärztl. Wochenschr., 1979, 92, № 9, p. 180–185.
134. Holway J.E., Smith C.E. – J. Wildlife Diseases, 1973, 9, № 4, p. 287–290.
135. Hudson E.B., Bucke D., Forrest A. – J. Fish Diseases, 1981, 4, № 5, p. 429–431.

136. Hussein S.A., Mills D.H. - Ibid., 1982, 5, № 2, p. 161-165.
137. Jensen M.H. - Ann. N.Y. Acad. Sci., 1965, 126, № 1, p. 422-426.
138. Jensen N.J., Bloch B. - Nord. veterinärmed., 1980, 32, № 3-4, p. 173-175.
139. Jorgensen P.E.V. - J. Fish Diseases, 1982, 5, № 1, p. 47-55.
140. Jorgensen P.E.V. - Ibid., № 3, p. 251-255.
141. Kehlet N.P., Gaede T., Westergaard J.M. - Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9-10, p. 1005-1009.
142. Kelly R.K., Loh P.C. - J. Virol., 1972, 10, № 4, p. 824-834.
143. Kelly R.K., Nielsen O., Mitchell S.C., Yamamoto T. - J. Fish Diseases, 1983, 6, № 3, p. 249-260.
144. Kelly R.K., Nielsen O., Yamamoto T. - In Vitro, 1980, 16, p. 225.
145. Kennedy J.C., MacDonald R.D. - Abstr. Annu. Meet. Amer. Soc. Microbiol. 1980, Washington, D.C., 1980, p. 260.
146. Kennedy J.C., MacDonald R.D. - J. Gen. Virol., 1982, 58, № 2, p. 361-371.
147. Kimura T., Suzuki S., Yoshimizu M. - Antiviral Res., 1983, 3, № 2, p. 103-108.
148. Kimura T., Yoshimizu M., Tanaka M. - Fish Pathol., 1983, 17, № 4, p. 251-258.
149. Kimura T., Yoshimizu M., Tanaka M., Suzuki S. - 5th Int. Congr. of Virology. Abstracts. Strasbourg, France, August 2-7, 1981, p. 296.
150. Kinkelin P. de, Le Berre M. - C. r. Acad. sci., 1974, D279, № 5, p. 445-448.
151. Kinkelin P. de, Le Berre M. - Ibid., 1977, D284, № 1, p. 101-104.
152. Kinkelin P. de, Baudouy A.-M., Le Berre M. - Ibid., № 5, p. 401-404.
153. Kinkelin P. de, Bearzotti M. - Fish Biol. : Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 431-439.
154. Kinkelin P. de, Bearzotti-Le Berre M., Bernard J. - J. Virol., 1980, 36, № 3, p. 652-658.
155. Kinkelin P. de, Castric J. - J. Fish Diseases, 1982, 5, № 1, p. 57-65.
156. Kinkelin P. de, Galimard B., Bootsma R. - Nature, 1973, 241, № 5390, p. 465-467.
157. Kiuchi A., Roy P. - Virology, 1984, 134, № 1, p. 238-243.
158. Kölbl O. - Österreich. Fisch., 1975, № 28, p. 69-72.
159. Kölbl O. - Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9-10, p. 1055-1068.

160. Kollinger G. – Mitt. Hamburg. Zool. Mus. und Inst., 1979, 76, S. 484–485.
161. Kovacsné G.E., Péntes B. – Halászat, 1982, 28, № 6, p. 162 – 163.
162. Kudo S., Kurosawa D., Kunimine I., Nobusawa K. et al. – Jap. J. Ichthyol., 1975, 21, № 4, p. 203–212.
163. Lenoir G. – Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1973, 51, № 4, p. 895–899.
164. Leong J.C., Hsu Ya Li, Engelking H.M., Mulcahy D. – Fish Biol., Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W. Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 43–55.
165. Ludlow J.W., Winston V.D. – Anal. Biochem., 1983, 131, № 1, p. 16–17.
166. Macdonald R.D., Dobos P. – 5th Int. Congr. of Virology. Abstracts. Strasbourg, France, August 2–7, 1981, p. 296.
167. Macdonald R.D., Gower D.A. – Virology, 1981, 114, № 1, p. 187–195.
168. Macdonald R.D., Moore A.R., Souter B.W. – Can. J. Microbiol., 1983, 29, № 1, p. 137–141.
169. MacMillan J.R., Mulcahy D. – J. Fish. Res. Board Can., 1979, 36, № 9, p. 1097–1101.
170. MacMillan J.R., Mulcahy D., Landolt M. – Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1980, 37, № 5, p. 799–804.
171. McAllister P.E. – Mar. Fish. Rev., 1978, 40, № 10, p. 21–23.
172. McAllister P.E., Nagabayashi T., Wolf K. – Ann. N.Y. Acad. Sci., 1977, 298, p. 233–244.
173. McAllister P.E., Fryer J.L., Pilcher K.S. – J. Wildlife Diseases, 1974, 10, № 2, p. 101–103.
174. McConnell S., Austen J.D. – Mar. Fish. Rev., 1978, 40, № 3, p. 30–32.
175. Meier W. – Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9–10, p. 1025–1029.
176. Meier W., Jorgensen P.E.V. – Nord. veterinärmed., 1979, 31, № 11, p. 484–485.
177. Meier W., Pfister K. – Schweiz. Arch. Tierheilk., 1981, 123, № 1, S. 37–49.
178. Mertens P.P.C., Jamieson P.B., Dobos P. – J. Gen. Virol., 1982, 59, № 1, p. 47–56.
179. Migus D.O., Dobos P. – Ibid., 1980, 47, p. 47–57.
180. Mitchell S.J., Cech J.J. – Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1983, 40, № 2, p. 242–247.
181. Mulcahy D., Bauersfeld K. – J. Fish Diseases, 1983, 6, № 2, p. 189–193.
182. Mulcahy D., Burke J., Pascho R., Jenes C.K. – Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1982, 39, № 8, p. 1144–1149.

183. Mulcahy D., Jenes C.K., Pascho R. – Arch. Virol., 1984, 80, № 2–3, p. 171–181.
184. Mulcahy D., Pascho R.J., Jenes C.K. – J. Fish Diseases, 1983, 6, № 2, p. 183–188.
185. Mulcahy D., Pascho R.J., Jenes C.K. – Ibid., № 4, p. 321–330.
186. Маргаритов Н., Янков И., Диков Ц. – Рибно стопанство, 1979, 26, № 6, с. 16–18.
187. Neukirch M. – J. Fish Diseases, 1984, 7, № 3, p. 231–234.
188. Nicholson B.L., Caswell P. – J. Clin. Microbiol., 1982, 16, № 3, p. 469–472.
189. Nicholson B.L., Pochebit S. – Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W. Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 35–42.
190. Nishimura T. – Fish Pathol., 1980, 14, № 4, p. 191–197.
191. Nishimura T., Fukuda H., Yamazaki H., Sano T. – Ibid., 1981, 16, № 2, p. 75–83.
192. Noga E.J., Hartmann J.X. – Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1981, 38, p. 925–930.
193. Ocvik J., Snoj N., Fijan N., Matašin Z. – Vet. glasn., 1981, 35, № 10, p. 1013–1017.
194. Okamoto N., Sano T., Hedrick R.P., Fryer J.L. – J. Fish Diseases, 1983, 6, № 1, p. 19–25.
195. Özel M., Gelderblom H., Samalecos C., Darai G. et al. – Electron Microsc., 1982. 10 Int. Congr. Hamburg, August 17–24, 1982, Vol. 3, Frankfurt/M., 1982, p. 137–138.
196. Özel M., Schwanz-Pfitzner I. – Zbl. Bakteriол., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyg., 1975, Abt. 1 Orig., A230, № 1, S. 1–14.
197. Paperna I., Matos A.P.A. – J. Fish Diseases, 1984, 7, № 2, p. 137–147.
198. Paperna I., Sabnai I., Colomi A. – Ibid., 1982, 5, № 5, p. 433–437.
199. Paperna I., Sabnai I., Zachary A. – Ibid., 1981, 4, № 6, p. 459–472.
200. Peters G., Hoffmann R., Klinger H. – Aquaculture, 1984, 38, № 2, p. 105–126.
201. Pfeil-Putzien C. – Zbl. Veterinärmed., 1978, B25, № 4, S. 319–323.
202. Pfeil-Putzien C., Hoffmann R. – Berlin. und münchen tierärztl. Wochenschr., 1979, 92, № 8, S. 162–164.
203. Pfitzner I. – Arch. Fischereiwiss., 1969, 20, № 1, S. 24–35.
204. Plumb J.A., Bowser P.R. – Mar. Fish. Rev., 1978, 40, № 10, p. 12–13.

205. Plumb J.A., Bowser P.R., Grizzle J.M., Mitchell A.J. — J. Fish. Res. Board Can., 1979, 36, № 11, p. 1390–1394.
206. Plumb J.A., Thune R.L., Klesius P.H. — Fish Biol.: Sero-diagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W. Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 29–34.
207. Prihoda J. — Veterinářství, 1979, 29, № 1, p. 35–36.
208. Pychynski T., Malanowska T., Kozlowski M. — Med. vet., 1981, 37, № 12, p. 742–743.
209. Rasmussen C.J. — Ann.-N.Y. Acad. Sci., 1965, 126, № 1, p. 427–460.
210. Ratz F., Bekesi L., Szabo E. — Beitr. Fischpathol. und -toxi-kol., Stuttgart-New York, 1980, p. 49–58.
211. Reiersen L.-O., Fugelli K. — J. Fish Biol., 1984, 24, № 2, p. 187–191.
212. Reno P.W., Nicholson B.L. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1980, 37, № 12, p. 2276–2281.
213. Reno P.W., Nicholson B.L. — J. Fish Diseases, 1981, 4, № 5, p. 361–370.
214. Reno P., Philippon-Fried M., Nicholson B.L., Sherburne S. — Mar. Fish. Rev., 1978, 40, № 10, p. 16–18.
215. Reno P.W., Philippon-Fried M., Nicholson B.L., Sherbur-ne S.W. — J. Fish. Res. Board Can., 1978, 35, № 1, p. 148–154.
216. Roberts T.E., Dobos P. — J. Gen. Virol., 1983, 64, № 2, p. 331–339.
217. Robin J., Berthiaume L. — Rev. can. biol., 1981, 40, № 4, p. 323–329.
218. Robin J., Berthiaume L., Laperrière A. — Ann. virol., 1984, E135, № 1, p. 67–80.
219. Robin J., Dery C. — Can. J. Microbiol., 1982, 28, № 1, p. 58–64.
220. Robin J., Larivière-Durand C. — Arch. Virol., 1983, 77, № 2–4, p. 119–125.
221. Robin J., Larivière-Durand C., Berthiaume L. — J. Virol. Meth., 1982, 5, № 5–6, p. 351–354.
222. Robin J., Larivière-Durand C., Bernard J. — Rev. Can. Biol. Exptl., 1983, 42, № 2, p. 173–176.
223. Robin J., Rodrique A. — Can. J. Microbiol., 1978, 24, № 11, p. 1335–1338.
224. Robin J., Rodrique A. — Rev. can. biol., 1980, 39, № 3, p. 153–156.
225. Roy P. — Int. Virol. IV. Abstr. 4th Int. Congr. Virol., Hague, 1978. Wageningen, 1978, p. 408.
226. Roy P. — Replication negative strand viruses. Proc. 4th Int. Symp., Saint Thomas, US Virgin Islands, Oct. 26–Nov. 1, 1980. New York e.a., 1981, p. 623–629.

227. Roy P., Clark H.F., Madore H.P., Bishop D.H.L. – J. Virol., 1975, 15, № 2, p. 338–347.
228. Sano T. – Fish Pathol., 1976, 10, № 2, p. 221–226.
229. Sano T., Fukuda H., Okamoto N., Kaneko F. – Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1983, 49, № 8, p. 1159–1163.
230. Sano T., Nishimura T., Okamoto N., Fukuda H. – Ibid., 1977, 43, № 5, p. 491–495.
231. Sano T., Nishimura T., Okamoto N., Yamazaki T. et al. – J. Tokyo Univ. Fish., 1977, 63, № 2, p. 81–85.
232. Sano T., Okamoto N., Nishimura T. – J. Fish Diseases, 1981, 4, № 2, p. 127–138.
233. Sano T., Oshima T., Kamata T. Пат. 4110467, США, заявл. 13.12.1976, № 751327, опублик. 29.08.1978, МКИ А 61 К 31/335.
234. Sano T., Tanaka K., Fukuzaki S. – Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W. Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 63–70.
235. Savan M., Dobos P. – J. Fish Diseases, 1980, 3, № 5, p. 437–440.
236. Schäperclaus W. – In: Fischkrankheiten. Akademie-Verlag. Berlin, 1979, S. 297–309.
237. Schlottfeldt H.-J. – Tierärztliche Umsch., 1979, 34, № 8, S. 539–546.
238. Schlottfeldt H.-J. – Ibid., № 9, S. 599–605.
239. Schlottfeldt H.-J. – Bull. Office int. epizoot., 1980, 92, № 9–10, p. 1031–1045.
240. Schubert G. – Z. Naturforsch., 1964, 19b, № 8, S. 675–682.
241. Schubert G. – Bull. Office int. epizoot., 1966, 65, № 7–8, p. 1011–1022.
242. Schubert G. – Arch. Fischereiwiss., 1969, 20, № 1, S. 36–49.
243. Schwedler T.E., Plumb J.A. – J. Wildlife Diseases, 1980, 16, p. 597–599.
244. Schwedler T.E., Plumb J.A. – Progr. Fish-Cult., 1982, 44, № 3, p. 151–152.
245. Schwedler T.E., Plumb J.A. – J. Wildlife Diseases, 1982, 18, № 4, p. 441–446.
246. Seeley R.J., Perlmutter A., Seeley V.A. – Appl. and Environ. Microbiol., 1977, 34, № 1, p. 50–55.
247. Shea T.B. – Ibid., 1983, 45, № 6, p. 1859–1864.
248. Shea T.B. – Ibid., 46, № 5, p. 1230–1231.
249. Sherburne S.W. – J. Fish. Res. Board Can., 1977, 34, № 2, p. 281–286.
250. Shimada M., Murakami T.H., Imahayashi T., Ozaki H.S. et al. – Acta histochem. et cytochem., 1983, 16, № 3, p. 232–244.

251. Silim A., Elazhary A.S.Y., Lagacé A. — *Can. J. Fish. and Aquat. Sci.*, 1982, 39, № 12, p. 1580–1584.
252. Smail D.A. — *Proc. Soc. Edinburgh*, 1982, B81, № 3, p. 169–176.
253. Smail D.A., Egglestone S.I. — *J. Fish Diseases*, 1980, 3, № 1, p. 47–54.
254. Smail D.A., Egglestone S.I. — *Ibid.*, p. 41–46.
255. Sonstegard R.A., McDermott L.A., Sonstegard K.S., — *Nature*, 1972, 236, № 5343, p. 174–175.
256. Soriamachi M., Sako H. — *Fish Pathol.*, 1982, 17, № 2, p. 115–118.
257. Stephens E.B., Newman M.W., Zachary A.L., Hetrick F.M. — *J. Fish Diseases*, 1980, 3, № 4, p. 387–398.
258. Swanson R.N. — *Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va.*, 1981. Basel e.a., 1981, p. 71–77.
259. Swanson R.N., Carlisle J.C., Gillespie J.H. — *J. Fish Diseases*, 1982, 5, № 6, p. 449–460.
260. Swanson R.N., Gillespie J.H. — *J. Fish. Res. Board Can.*, 1979, 36, № 5, p. 587–591.
261. Swanson R.N., Gillespie J.H. — *Can. J. Fish. and Aquat. Sci.*, 1982, 39, № 1, p. 225–228.
262. Tanaka M., Yoshimizu M., Kimura T. — *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1984, 50, № 3, p. 431–437.
263. Tanaka M., Yoshimizu M., Kusakari M., Kimura T. — *Ibid.*, № 1, p. 37–42.
264. Tesarcik J., Macura B., Trtek J., Flora M. — *Bul VURH Vodnany*, 1982, c. 1, p. 13–19.
265. Toranzo A.A., Hetrick F.M. — *J. Fish Diseases*, 1982, 5, № 3, p. 223–231.
266. Urdaneta H.E. — *Ibid.*, № 4, p. 347–348.
267. Vaughan G.E. — *Progr. Fish-Cult.*, 1979, 41, № 3, p. 163–164.
268. Wakabayashi H., Egusa S., Fryer J.L. — *Can. J. Fish. and Aquat. Sci.*, 1980, 37, № 10, p. 1499–1504.
269. Walczak E.M., Noga E.J., Hartmann J.X. — *Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W. Va.*, 1981. Basel e.a., 1981, p. 419–429.
270. Walker D.P., Hill B.J. — *J. Gen. Virol.*, 1980, 51, № 4, p. 385–395.
271. Watanabe T. — *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1983, 49, № 2, p. 157–163.
272. Watanabe T., Yamamori K. — *Ibid.*, p. 307.
273. Weiland F., Enzmann P.-J., Deuter A. — *5th Int. Congr. of Virology. Abstracts. Strasbourg, France, August 2–7, 1981*, p. 297.

274. Weissenberg R. — Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, 126, № 1, p. 362–374.
275. Williams I.V., Amend D.F. — J. Fish. Res. Board Can., 1976, 33, № 7, p. 1564–1567.
276. Wingfield W.H., Chan L.D. — Symp. Diseases fishes and shell-fishes., Washington, D.C., 1970, p. 307–318.
277. Witt A. — Trans. Amer. Fish. Soc., 1957, 85, p. 271–279.
278. Wizigmann G., Baath Ch., Hoffmann R. — Zbl. Veterinärmed., 1980, 27, № 1, S. 79–81.
279. Wizigmann G., Hoffmann R. — Ibid., 1982, B29, № 10, S. 782–788.
280. Wolf K. — Fish Pathol., 1976, 10, № 2, p. 135–154.
281. Wolf K. — Abstrs Annu. Meet. Amer. Soc. Microbiol., Atlantic City, N.J., 1976, Washington, D.C., 1976, p. 235.
282. Wolf K., Darlington R.W., Taylor W.G., Quimby M.C. — J. Virol. 1978, 27, № 3, p. 659–669.
283. Wolf K., Dunbar C.E., Snieszko S.F. — Progr. Fish-Cult., 1960, 22, № 2, p. 64–68.
284. Wolf K., Gravell M., Malsberger R.G. — Science, 1966, 151, № 3713, p. 1004–1005.
285. Wolf K., Mann J.A. — In Vitro, 1980, 16, № 2, p. 168–179.
286. Wolf K.E., Quimby M.C., Carlson C.P., Owens W.J. — J. Fish Diseases, 1979, 2, № 3, p. 259–260.
287. Wolf K., Quimby M.C., Pettijohn L.L., Landolt M.L. — J. Fish. Res. Board Can., 1973, 30, № 11, p. 1625–1627.
288. Wolf K., Smith C.E. — J. Fish Diseases, 1981, 4, № 6, p. 445–457.
289. Wood E.M., Snieszko S.F., Yasutake W.T. — A.M.A. Arch. Pathol., 1955, 60, № 1, p. 26–28.
290. Yasutake W.T. — Fish Pathol., 1979, 14, № 2, p. 59–64.
291. Yu K.K.-Y., Macdonald R.D., Moore A.R. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 5, p. 401–410.
292. Zwillenberg L.O., Jensen M.H., Zwillenberg H.H.L. — Bull. Office int. epizoot., 1966, 65, № 7–8, p. 987–990.
293. Grützner L. — Zbl. Bakteriол., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hygiene, 1956, 165, № 2–3, S. 81–96.
294. Grützner L. — Zbl. Bakteriол., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hygiene, 1958, 173, № 3–4, S. 195–202.
295. Wolf K., Quimby M.C., Pyle E.A., Dexter R.P. — Science, 1960, 132, № 3443, p. 1890–1891.
296. Fryer J.L. — Ann. N.Y. Acad. Sci., 1965, 126, № 1, p. 566–586.
297. Рудиков Н.И. — Ветеринария, 1969, № 12, с. 93–94.
298. Пичугина Т.Д., Мочалкин В.П., Анисимов М.К. — Бюл. Всес. ин-та эксперим. вет., 1976, вып. 26, с. 82.

299. Horiuchi M., Nakata M., Kohga K. – Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1979, 45, № 2, p. 147–151.
300. Wolf K., Quimby M.C. – Science, 1962, 135, № 3508, p. 1065–1066.
301. Noga E.J. – Experientia, 1979, 35, № 2, p. 181–182.
302. Lidgerding B.C., Schultz C.L. – In Vitro, 1979, 15, p. 216.
303. Wolke R.E., Wyand D.S., Khairallah L.H. – J. Compar. Pathol., 1970, 80, № 4, p. 559–563.
304. Paperna I. – Aquaculture, 1977, 10, № 2, p. 169–176.
305. Zaki-Mohamed, Ministry of agr. Egypt. Techn. and sci. serv. Vet. section. Bull. № 214, Cairo, 1939, 6 pp.
306. Zimmer M.A., Ewing M.S., Kocan K.M. – J. Fish Diseases, 1984, 7, № 5, p. 407–410.
307. Neukirch M., Glass B. – Zbl. Bakteriол., Mikrobiol. und Hygiene, 1984, A257, № 3, S. 433–438.
308. Burke J., Grischkowsky R. – J. Fish Diseases, 1984, 7, № 5, p. 421–429.
309. Литвиненко В.В. – Рыб. х-во (Киев), 1982, № 35, с. 63–65.
310. Roy P., Gupta K.C., Kiuchi A. – Virus Res., 1984, 1, № 3, p. 189–202.
311. Rudikov N.I., Pitchugina T.D. – 5th Int. Congr. of Virology. Abstracts. Strasbourg, France, August 2–7, 1981, p. 298.
312. McAllister P.E., Reyes X. – J. Fish Diseases, 1984, 7, № 4, p. 319–322.
313. Okamoto N., Taniguchi N., Seno Y., Sano T. – Fish Pathol., 1984, 19, № 1, p. 1–4.

МИКРОФЛОРА И БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БОЛЕЗНИ РЫБ

Н.И. Рудиков, Л.И. Грищенко

ВВЕДЕНИЕ

Рыбы, как обитатели воды, постоянно находятся в окружении водных микроорганизмов, в том числе бактерий. Последние могут проникать в рыб и находиться некоторое время в тканях и органах, не принося им вреда. Бактерии постоянно присутствуют в желудочно-кишечном тракте, откуда при определенных условиях могут быстро проникать во внутренние ткани и органы. Считают, что проникновение бактерий в рыб возможно также через кожу, однако в опытах на изолированных лоскутах кожи радужной форели и кумжи это не подтвердилось. С применением метода гиперосмотической инфльтрации установили, что *Escherichia coli* не проходит через кожу, но она проникает в кровоток через жаберный эпителий. В специальной камере культуру кишечной палочки пытались вводить в разных частях тела рыб, что контролировали путем высевов проб крови. Заражение рыб удавалось лишь через переднюю часть тела (до грудных плавников), на основании чего сделан вывод, что бактерии проникают в рыб через жабры [1].

Изучали также скорость очищения кровяного русла радужной форели от бактерий. Рыбам массой 304–512 г. содержащимся в воде при температуре 8°C, ставили катетеры в спинную аорту, вводили в кровь убитую прогреванием культуру *Salmonella pullorum*, меченую ^{51}Cr , и затем в течение часа определяли количество бактерий в крови через каждые 5 мин. Установили, что освобождение кровяного русла от бактерий при разных введенных концентрациях ($4,75 \times 10^{10}$, $2,4 \times 10^{10}$ и $4,75 \times 10^9$ бактерий/мл) протекало в две фазы. В первые 15 мин. из крови исчезало около 90% бактерий. Вторая фаза начиналась через 25–30 мин. после введения бактерий и продолжалась примерно 30 мин. Через час введенные в кровь бактерии распределялись в разных органах и тканях, при этом более 70% их количества находилось в почках и около 10% – в жабрах [2].

Исследование микрофлоры рыб во многих случаях обусловлено изучением питания, связей рыб с окружающей средой и т.д. [3,4,5]. При изучении бактериальной флоры пищеварительного тракта радужной форели в сканирующем электронном микроскопе не наблюдали бактерий, непосредственно связанных с оболочками желудочно-кишечного тракта, что объясняют непостоянством микрофлоры форели и ее зависимостью от микрофлоры окружающей среды. На микрофлору желудка, кишечника и кожи радужной форели влияют температуры и другие факторы среды [6,7].

Возникновение болезней у рыб также связано с изменяющимися условиями среды, в том числе с увеличением количества и состава бактерий, изменением химизма, загрязнением воды и др. [248, 252]. Так, отмечается, что содержание трески в скученных условиях приводит к гибели (до 66%) от эрозии и гниения плавников и хвостового стебля [249], после сортировки угрей в теплое время года среди них наблюдают заболевания и выделяют патогенные бактерии — *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida* и *Pseudomonas* sp. [250].

При распознавании инфекционных болезней важное значение имеет быстрота определения возбудителя. Для этого разрабатываются схемы идентификации возбудителей, селективные питательные среды, ускоренные методы диагностики — прямой и непрямой методы иммунофлуоресценции, реакция диффузионной преципитации в геле и др. [251]. Бактериологические исследования внутренних органов больных угрей показали, что частота выделения патогенных возбудителей зависит от органа, из которого делают высевы. При исследовании 96 угрей частота выделения *A. hydrophila*, *Edwardsiella tarda* и *P. anguilliseptica* из сердца (крови) составляла 77%, из селезенки — 84%, из печени — 89% и из почек — 94% [8, 227]. Несомненно, что при разных болезнях имеются свои особенности в локализации возбудителей, что следует учитывать при исследовании рыб.

Ниже излагаются результаты исследований основных бактериальных болезней рыб, проведенных в последние годы.

1. Аэромонады и аэромоназы

Таксономия аэромонад окончательно пока не разработана. "Определитель бактерий" Берджи (8-е издание) относит род *Aeromonas* к семейству *Vibrionaceae* и включает три вида:

Aeromonas hydrophila (подвиды *hydrophila*, *anaerogenes*, *proteolytica*), *A. punctata* (подвиды *punctata* и *caviae*) и *A. salmonicida* (подвиды *salmonicida*, *achromogenes* и *massoicida*).

Для приведения терминологии аэромонад в соответствие с новой таксономией исследовали 103 штамма аэромонад, выделенных от больных аэромонозом (краснухой) карпов из рыбноводных хозяйств разных географических зон нашей страны, начиная с 1962 г., из них 91 штамм ранее был идентифицирован как *A. punctata* и 12 штаммов – как *A. formicans*. В числе исследованных штаммов входили как патогенные, так и непатогенные. В результате установили, что аэрогенные штаммы образовывали газ из глицерина и давали положительную реакцию на бутандиолдегидрогеназу, что позволило с новых таксономических позиций идентифицировать их как *A. hydrophila* подвид *hydrophila* вместо прежнего *A. punctata*, а анаэрогенные штаммы, не образующие газ из глицерина и дающие положительную реакцию на бутандиолдегидрогеназу, как *A. hydrophila* подвид *anaerogenes* вместо прежнего *A. formicans*. [9].

Существуют также другие классификации, одна из которых [11] предлагает рассматривать *A. hydrophila* с подвидами *hydrophila* и *anaerogenes* и двумя биотипами каждый, и *A. punctata* – с подвидами *punctata*, *caviae* и *anaerogenes*. Характеристика бактерий этого рода дана в Лабораторном практикуме по болезням рыб [10].

Совершенствуется методика бактериологической диагностики аэромонад, псевдомонад и вибрионов рыб с целью обеспечения необходимой быстроты и эффективности проводимых исследований [59, 60]. При просмотре первичных посевов на чашках с щелочным агаром колонии микроорганизмов, выросшие после 48-час. инкубации при температуре 22–28°C опрыскивают соединенными *ex tempore* 1% водным раствором диметил-*p*-фенилендиамина сернокислого или метилпарааминфенола сульфата и 1% спиртовым раствором альфа-нафтола (1:1). Смесь реактивов наносят с помощью распылителя-дозатора жидкости типа РДЖ-М4, при использовании которого достаточно 0,5 мл смеси на 5–6 чашек. После опрыскивания 10–15 чашек учитывают результат.

Известно, что аэромонады, вибрионы и псевдомонады дают положительную реакцию на цитохромоксидазу. При применении диметил-*p*-фенилендиамина все оксидазоположительные колонии через 25–30 с дают синее окрашивание, а при применении

метилпарааминофенола—светло-коричневое. Изменившие цвет колонии пересевают на среды Олькеницкого и лактозосахарозную для дальнейшего изучения. Через 18 ч выросшие субкультуры пересевают на среду Хью-Лейфсона для определения окислации или ферментации глюкозы ($O-F$ -тест). Псевдомонады дают $O+F^-$, а аэромонады и вибрионы $O+F^+$. Дальнейшая их дифференциация (в случае отсутствия феномена газообразования у аэромонад) проводится по лизину и аргинину: аэромонады обладают аргининдегидролазой и не обладают лизиндекарбоксилазой, вибрионы—наоборот. Окончательная идентификация возбудителей проводится с помощью дифференциально-диагностических сред с маннитом, мальтозой, арабинозой, желатином и среды Кларка. Эта методика позволяет выявлять также атипичные, не образующие пигмента штаммы *A. salmonicida*.

Продолжается изучение свойств аэромонад. Биохимические исследования 110 патогенных и 47 непатогенных для карпов изолятов *A. hydrophila* показали, что . . . лецитиназу образуют все патогенные и 12,5% непатогенных бактерий, плазмокоагулазу — 78,2% и 13,5% соответственно, гемотоксический фактор — 98,2 и 27,0%, фибринолитический фермент — 78,2 и 94,3% соответственно, а желатиназу — все патогенные и непатогенные бактерии [58]. Здесь прослеживается связь между активностью ряда ферментов и патогенностью бактерий для рыб.

При изучении связи между образованием некоторых внеклеточных энзимов и вирулентностью *A. hydrophila* для канального сома использовали среды с эластином, желатином, крахмалом, эскулином и клетками стафилококка. Все 127 исследованных штаммов аэромонад гидролизovali желатин и крахмал, большинство — эластин (91,34%), казеин (95,28%), эскулин (85,83), и клетки *Staphylococcus aureus* (71,65%). По отношению к эластину штаммы разделились на две группы, при этом эластиназоположительные аэромонады (91,34%) были патогенными для канального сома, вызывая его гибель [13].

Внеклеточные продукты *A. hydrophila* обладают патологическим действием при внутрибрюшинном или внутримышечном введении радужной форели и американской палии массой 3–21 г. Их активность терялась при прогревании в течение 10 мин при температуре 98°C. Гибель палии после введения препаратов из штамма NRC505 и его протеазодефицитного мутанта в дозе 0,2 мл сильно коррелировала с гемолитической активностью этих препаратов [14].

Усовершенствован метод трансформации патогенной для рыб *A. hydrophila*. Клетки выращивали в бульоне и осторожно суспендировали в 50 мМ растворе $MgCl_2$ и 10 мМ растворе трис- HCl -буфера (рН 8,0). Затем клетки переосаждали и суспендировали в $CaCl_2$ -трис буфере (100 мМ $CaCl_2$ и 10 мМ трис- HCl , рН 8,0), выдерживали при комнатной температуре в течение 20 мин, вновь переосаждали и суспендировали в том же буфере до 1/10 первоначального объема бульонной культуры. 200 мкл пробы помещали на лед, добавляли 25 мкл ДНК, выдерживали в течение 20 мин и затем прогревали при $42^\circ C$ в течение 2 мин. Сбор трансформанта при этой процедуре был примерно в 100 раз больше, чем при применении метода Коэна [15].

В связи с тем, что изоляты аэромонад различаются по вирулентности, проводился поиск лабораторного метода, который позволил бы дифференцировать вирулентные аэромонады от невирулентных. Так, исследовали 30 штаммов, выделенных от здоровых и погибающих радужных форелей, и штаммы разделили на 3 основные группы: вирулентные ($LD_{50} = 10^{4,5}$), слабо вирулентные ($LD_{50} = 10^{5,5}$) и авирулентные ($LD_{50} = 10^7$). В РА установлено, что вирулентные штаммы обладают общим О-антигеном. Только они дают осадок после кипячения и устойчивы к бактерицидному действию нормальной сыворотки морской свинки. Все вирулентные и некоторые авирулентные штаммы не агглютинируются в растворе акрифлавина [16].

Аэромонады широко распространены в воде и гидробионтах. Они вызывают заболевания рыб и других водных животных, протекающие энзоотически или эпизоотически, с высокой смертностью. Появление болезни нередко связывают со стрессом. Влияние неблагоприятных условий среды на развитие аэромонадоза изучали в экспериментальных условиях [17].

Канальным сомам средней массой 75 г вводили внутривентриально сублетальную дозу культуры *A. hydrophila* (2×10^7 клеток), а затем в течение 144 ч выдерживали в стрессовых условиях: в воде с низким содержанием кислорода (1,5 – 1,7 мг/л), высокими концентрациями аммиака (1,0–1,2 мг/л) и углекислоты (4–10 мг/л) или в воде с различными сочетаниями этих веществ. При разных условиях опытов гибель рыб была различной. При стрессе в почках сомов общее количество бактерий было намного больше, чем в почках контрольных рыб. *A. hydrophila* выделяли от 67% подопытных и 9% контрольных животных, а *Edwardsiella tarda*, по-видимому, эндемичная в

исследуемой популяции, — от 43% подопытных и 7% контрольных рыб. В жабрах, печени, туловишной и головной почках, селезенке рыб, подвергавшихся стрессу гистологически обнаруживали патологические изменения, тогда как у контрольных сомов таких изменений не отмечали.

Высокое содержание углекислоты, аммиака и нитритов, низкая концентрация кислорода являются основными показателями качества воды, которые снижают устойчивость рыб к заболеванию. Резкое падение количества кислорода при отмирании водорослей может приводить к появлению аэромоноза у канальных сомов [19].

В отдельных случаях загрязнители воды не усиливают летальное действие патогенных аэромонад. На радужную форель массой $5,74 \pm 1,72$ г воздействовали сублетальными концентрациями полихлорбифенила (7,3 и 14,7 мкг/л) и меди (10,9 и 21,5 мкг/л) в течение 30 дней, а затем заражали культурой *A. hydrophila*. Гибель, рыб, находившихся в растворах полихлорбифенила, была значительно ниже (5,2%), чем контрольных. У оставшихся в живых рыб имели место повышенный лейкоцит и пониженный гематокрит. Гибель рыбы, подвергавшихся действию меди, была такой же, как среди контрольных рыб [18].

Аэромонозы протекают остро как септическое заболевание (геморрагическая септицемия, инфекционная водянка и др.). Они могут вызывать язвенные поражения кожи и мышц, а также являются причиной специфического заболевания — аэромоноза (фурункулеза) лососевых.

На основании патологоанатомических и гистологических исследований карпов, зараженных патогенной культурой *A. hydrophila* и ее озвученными экстрактами, рассматривается следующий механизм развития симптомов острого аэромоноза:

- 1) патогенные аэромонады сильно размножаются в кишечнике;
- 2) бактерии проникают в кровеносные сосуды и с кровью попадают во все ткани, при этом под действием эндотоксинов разрушающихся бактерий увеличивается проницаемость сосудистой стенки;
- 3) в местах сильного повреждения стенок сосудов образуются кровоизлияния, а в менее поврежденных участках выходит плазма и образуются отеки;
- 4) плазма, выходящая из сосудов, накапливается в межклеточных пространствах дермы чешуйных кармашков, вызывая отек и ерошение чешуи [56].

Одновременно устанавливается заметное снижение гематокрита, количества эритроцитов, гемоглобина и появление у экспериментально зараженных карпов анемии, которая была

нормоцитной и нормохромной. Полагают, что анемия возникает в результате разрушения эритроцитов гемолизином, который образуется патогенной аэромонадой, проникающей в кровь, и вследствие выхода эритроцитов через стенки сосудов. Отмечают также некрозы тканей почек и селезенки, а затем — угнетение функции гемопоэза [57].

1.1. Эритродерматит карпов

Это заболевание как самостоятельную нозологическую единицу стали обсуждать с 1971 г., когда N. Fijan a.o. [20] предложили — на основании этиологических различий — рассматривать краснуху как группу (комплекс) болезней.

Заболевание характеризуется следующими признаками. Карпы скапливаются у притока воды. Они имеют темную окраску тела, слабые или выраженные вздутие брюшка и экзофтальмию, покраснение и некрозы плавников, водянистые волдыри или отечные участки на коже тела. Как правило, у рыб развиваются кожные язвы разного размера и формы, окруженные красным ободком кровоизлияний, а на стадии заживления — сероватым ободком рубцующейся ткани. У отдельных карпов находят также искривления позвоночника.

После ряда исследований возбудителем эритродерматита стали считать атипичную *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* [21, 26].

Ее выделяли от рыб в Нидерландах, Югославии, Венгрии, Австралии и других странах [22, 25]. В Венгрии в последние годы из язв карпов получено 37 изолятов возбудителя эритродерматита. Их выделяли главным образом на кровяном агаре. 72-часовые бульонные культуры использовали для экспериментального заражения в скарифицированную кожу. Через 5–6 дней у зараженных рыб появлялся характерный дерматит, а затем язвы (иногда они располагались группами вдоль линии скарификации) или мелкие папулы с гиперемизированными краями, часто с некротизированным центром. Подобные результаты отмечали также при втирании бактериальных культур в поврежденные плавники карпов, которые впоследствии разрушались и отпадали. От заболевших рыб вновь выделяли возбудителя эритродерматита. Биохимически и морфологически все изоляты были сходными, но не идентичными с *A. salmonicida*, поскольку являлись каталоизо-негативными.

Изучая условия выделения возбудителя эритродерматита,

карпам—двухлеткам вводили бактерию внутрикожно. Погибших рыб сохраняли в течение 24, 48 и 96 ч в различных температурных условиях (+4, +10 и +20°C). Вновь выделить возбудителя можно было перед появлением язв на теле рыб, то есть не позднее 10 дней после заражения. Из почек бактерия не выделялась. В погибшей рыбе возбудитель сохранялся короткий период времени даже при наиболее низкой температуре. Делается вывод, что существующий бактериологический метод непригоден для систематических выделений бактерии эритродерматита, и необходимо разрабатывать специфические методы обнаружения антител при этой болезни. Отмечено также, что трупы карпов, погибших от эритродерматита не являются источником инфекции для прудовых рыб [23].

Изучали чувствительность разных видов рыб и возбудителю эритродерматита карпов. При этом карпов, линей, белых амуров и толстолобиков заражали штаммом V76-48 путем внутрикожной инъекции 0,1 мл бактериальной суспензии и содержали при температуре воды $19 \pm 2^\circ\text{C}$. Язвенное поражение бесчешуйных участков кожи, типичные для эритродерматита, отмечали только у карпов. Белые амур и толстолобики оказались очень чувствительными и погибали через 3-7 дней после заражения. Причем у первых клинические признаки заболевания не успевали развиваться, а у вторых появлялись некрозы на месте введения бактерий. Лини были значительно устойчивее к заражению, чем карпы [24]. С помощью реакции агглютинации на стекле и реакции диффузионной преципитации в геле обнаружено антигенное родство возбудителя эритродерматита с *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* [27].

При сравнительном исследовании карасей с кожно-язвенной болезнью, собранных из различных мест (из пяти участков среднего запада США и по одному участку в Англии и Японии) выяснено, что единственной бактерией, выделенной от рыб из разных мест, был атипичный, образующий с задержкой пигмент, штамм *A. salmonicida*. Из 83 высевов эта бактерия выделена в 64 случаях (77%), и она преобладала на ранних стадиях болезни. От рыб из четырех мест выделяли также *A. hydrophila* (в 34% случаев), чаще на конечной стадии развития язв. На основании этого сделан вывод, что *A. salmonicida* является вероятной причиной язв, а *A. hydrophila* играет вторичную роль. При изучении биохимических свойств установили, что все культуры были примерно одинаковыми и совпадали со свойствами, описанными ранее у атипичной *A. salmonicida*, но по некоторым параметрам отличались от свойств типичной аэромо-

нады. Основной состав ДНК (57 моль% гуанина+цитозина) и результаты определения гомологии ДНК показывали высокую степень родства между исследованными и типичными штаммами *A. salmonicida*. Опыты экспериментального воспроизведения болезни проводили на годовиках карася. Им вводили культуры атипичного штамма *A. salmonicida* и *A. hydrophila*, а также фильтраты тканей язв и почек больных рыб внутримышечно, внутрибрюшинно, подкожно и путем нанесения на участки тела с удаленной чешуей. После инъекции большинство рыб погибло без появления язв, однако они развились у 5 из 10 карасей, зараженных методом удаления чешуи. Введение *A. hydrophila* и фильтратов не приводило к появлению язв и гибели рыбы. В дополнительных опытах карасей выдерживали 30 мин в воде, содержащей бактерии, без предварительного удаления чешуи. В этом случае язвы появились у 9 из 10 рыб, обработанных взвесью атипичной *A. salmonicida* (3×10^6 КОЕ/мл воды). У большинства карасей были множественные язвы, из которых выделялась исходная культура. При выдерживании рыб в водной взвеси бактерий из группы *A. hydrophila* язвы не развивались даже при предварительном удалении чешуи [28, 29, 30].

Выделенные в Австралии изоляты атипичной *A. salmonicida* были наиболее патогенными при внутримышечном введении (1×10^4 живых клеток). здоровым рыбам массой 12 г, а также при нанесении на участки тела с удаленной чешуей (5×10^6 живых клеток) [25].

Язвенная болезнь, возбудителем которой является ахромогенная *A. salmonicida*, установлена также у плотвы [31]. Эту бактерию выделяли из язв (95%), крови (67%) и почек (24%) больных рыб и не обнаруживали у клинически здоровых рыб. Отмечали медленный рост бактерии, что делает затруднительным первоначальное ее выделение и требует использования кровяного агара [31].

Накопленные данные указывают, что *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* не является единственной причиной эритродерматита и язвенной болезни.

D.Schulz и E.Bulling [11] исследовали 112 больных эритродерматитом карпов, из них 72 экз. изучали бактериологическим и 40 экз. патоморфологическим методом. Выделили 92 изолята бактерий, преимущественно аэромонады и псевдомонады, а в единичных случаях — другие виды (энтеробактерии, вибрионы, плезиомонады, пастереллы, моракселлы, флавобактерии и из группы ахромобактер-мукоза). Все бактерии про-

верены на патогенность, и на ее основании авторы пришли к заключению, что эритродерматит—неспецифическая раневая инфекция, которая может вызываться различными возбудителями, среди которых бактерии группы *Aeromonas hydrophila-punctata* занимают преимущественное положение. Полагают, что в естественных условиях заражение рыб происходит через рот или через кожу. В другом случае [32] от больных карпов изолировали *A.punctata* и *A.hydrophila*. Они вызывали острое течение эритродерматита, при котором уровень оксалацетил-глютамин-трансаминазы был втрое выше, чем у здоровых рыб (87:30 ЕД/л), а пируват-глютамин-трансаминазы — в шесть раз выше (26:4,1 ЕД/л). Слабую, но отчетливую кожную реакцию вызывает также неидентифицированная флуоресцентная неподвижная бактерия, выделенная от больных эритродерматитом карпов вместе с аэромонадами и псевдомонадами [33].

По-видимому, кожные поражения у карпов и других рыб вызываются различными причинами, среди которых бактерии разных видов имеют основное значение.

1.2. Аэромоноз (краснуха) разных видов рыб

Аэромоноз (краснуха карпов, геморрагическая септицемия, инфекционная брюшная водянка и др.). регистрируется повсеместно, чаще в теплых водах с высоким содержанием органических веществ при различных стрессовых воздействиях.

Возбудителем являются бактерии рода *Aeromonas* (*A.hydrophila* и *A.punctata* разных биотипов). Их патогенное действие связано как с инвазивностью клеток, так и с внеклеточными продуктами (энзимами, токсинами, гемолизином и др.) [12, 13, 14].

Аэромоноз отмечают у многих видов карповых, лососевых и других рыб. Его клиническое проявление может быть различным. Так, при исследовании карасей, растительноядных и аквариумных рыб было установлено, что *A.hydrophila* вызывала геморрагическую септицемию у карасей и гниение плавников и хвоста у других рыб [34].

В Иране впервые наблюдали краснуху среди белых амуров, причиной которой являлась *A.hydrophila*, а в качестве сопутствующей выделяли бактерию *Pseudomonas* sp.[35].

При краснаязвенной болезни, вызываемой бактерией *A.hydrophila*, у большеротых окуней появляются различные поражения кожи—от булавочных до обширных хронических изъязвлений. От-

мечают фокусные кровоизлияния, отек и некроз кожи, который распространяется на подлежащую мышечную ткань с инфильтрацией мононуклеарных клеток и гранулоцитов. В печени и почках образуются некротические фокусы вследствие действия токсических продуктов, образуемых *A. hydrophila*. В наиболее тяжелых случаях нарушается структурная целостность этих органов. Патологические изменения в селезенке и сердце не выражены даже в случаях тяжелого поражения печени и почек. Патологоанатомические и гистологические изменения одинаковы как у естественно больных, так и искусственно зараженных большеротых окуней. Считают, что развитие красной язвенной болезни у окуней связано с повышением температуры воды, что усиливает обмен, снижает упитанность, а стресс приводит к увеличению образования кортикостероидов и повышению чувствительности к инфекции [36]. С выделенной культурой *A. hydrophila*, меченной ^{51}Cr , ставили реакцию агглютинации. Установлено, что с антигеном реагируют только IgM - подобные антитела окуня. Инфицированные рыбы имеют более высокие титры агглютининов, чем клинически здоровые, причем самые высокие титры бывают летом и осенью, то есть сразу после пика инфекции (март-май). Сыворотки окуней из каждого водохранилища реагировали только с изолятами, полученными из этого же водоема [38].

У большеротого окуня причиной красной язвенной болезни является также инвазия *Epistylis* sp., но вторичная инфекция *A. hydrophila* приводит к геморрагической септицемии, оканчивающейся гибелью рыб. Во время эпизоотических вспышек этой болезни в отдельных водоемах юго-востока США, сопровождающихся высокой смертностью некоторых видов промысловых рыб, исследовали материалы от 114 экз. большеротого окуня. *Epistylis* sp. обнаружили только у 35% рыб, тогда как *A. hydrophila* - у 96%. Электронная микроскопия показала, что ни стебель, ни структуры прикрепления паразита не имеют органелл, способных продуцировать литические ферменты. Так как известно, что *A. hydrophila* выделяет сильные литические токсины, делается вывод, что *Epistylis* sp. является доброкачественным наружным комменсалом, а *A. hydrophila* - первичным возбудителем красной язвенной болезни [39].

Имеют место различные проявления аэромоноза у рыб, на что указывают следующие сообщения.

В пруду, плотно заселенном разными рыбами (*Cirrhinus mrigala*, *Labeo rohita*, *Catla catla* и *Cyprinus carpio*) в ноябре 1977 г. - январе 1978 г. наблюдали большую гибель

только одного вида — *C. mrigala*. У рыб этого вида вначале появлялось покраснение роговицы, а затем она становилась молочно-белой и мутной. Больные особи были вялыми, у них появлялось покраснение вентральной поверхности брюшка, оснований грудных и хвостового плавников, и они вскоре погибали. При бактериологическом исследовании выделили патогенную *Aeromonas* sp. В борьбе с болезнью были эффективными следующие мероприятия: удаление сильно инфицированной рыбы, внесение в пруд перманганата калия ($1 \text{ ч}/10^6$), через неделю — извести ($200 \text{ ч}/10^6$) и еще через неделю — снова перманганата калия ($0,5 \text{ ч}/10^6$) [37].

В 1978 г. среди аю (*Plecoglossus altivelis*), выращиваемых в прудах префектуры Токусима (о. Сикоку), наблюдали экзофтальмию и подкожные кровоизлияния, и от них выделяли однородные культуры бактерии, которую идентифицировали как *A. hydrophila* subsp. *hydrophila* [40].

Гибель среди миног отмечается во время миграции в реки и особенно при их содержании в лабораторных условиях. При этом наблюдают ненормально большое количество слизи на теле больных животных, петехиальные кровоизлияния на коже и плавниках, кровоизлияния и отеки вокруг глаз. При вскрытии обнаруживали кровоизлияния во внутренних органах, а в одном случае — тромбоз и дегенерацию кровеносных сосудов жабр. Считают, что геморрагическую септицемию у миног вызывают бактерии *A. hydrophila* и *Pseudomonas fluorescens*, которые выделяются из больных особей. В лабораторных условиях среди вновь завозимых миног это заболевание можно профилактировать путем добавления хлортетрациклина в воду аквариумов [41].

Стигматоз (пятнистость) — заболевание сеголеток и взрослых толстолобиков и большеголовов, которое наблюдают в большинстве провинций Китая. Оно характеризуется наличием красных пятен на поверхности тела рыб, чаще на боках выше анального отверстия. Вначале появляются поражения глаз и мелкие красные пятна на коже. Последние нагнаиваются, отпадает чешуя, развиваются бактерии, что приводит к разрушению эпидермиса и образованию глубоких впадин с красными краями. Возбудителем болезни является *A. punctata* subsp. *punctata*.

A. hydrophila и *Pseudomonas* sp. могут быть причиной тяжелой инфекции и гибели молоди шуки-маскионга, выведенной на рыбзаводе, на стадии становления на плав. В борьбе с возбудителями болезней достаточно эффективным средством было ультрафиолетовое облучение воды в период инкубации икры и подраживания молоди [42].

У угрей аэромоноз протекает с отеками, кровоизлияниями на голове, красными пятнами на хвосте и брюшке. Находят также кровоизлияния в мышцах и внутренних органах, увеличение печени и почек [43].

При заболевании японского гольца выделяли *A. hydrophila* (у 86% исследованных рыб), *A. hydrophila anaerogenes* (33%), и *A. sobria* (62%), однако признаки пучеглазия и ерошения чешуи наблюдали только у рыб, зараженных бактерией *A. hydrophila subsp. hydrophila* [44].

У карпов возбудителем болезни являются патогенные серотипы *A. punctata* [45, 46, 47]. Установлено, что при введении в желточный мешок куриного эмбриона 25 микробных клеток гибнет 75%, а 250 микробных клеток – 100% эмбрионов через 48 ч после заражения [47].

Разрабатываются средства и методы борьбы с аэромонозами рыб. На канальном соме изучена токсичность и эффективность фуранаса. При 96-ч экспозиции средняя переносимая концентрация фуранаса (инфурпиринола, П-7138) для канального сома составляла 0,94 мг/л при температуре воды 21°C, pH 7,6 и общей жесткости 50 мг/л. При добавлении в агар фуранас уменьшал рост *A. hydrophila* в концентрации 0,5 – 1,0 мг/л и полностью подавлял его в концентрации 2,0 мг/л. После внутримышечного заражения культурой *A. hydrophila* (12×10^4 – $9,6 \times 10^6$ клеток) выдерживание рыбы в растворе фуранаса (2 мг/л) в течение 6,5 час. с повторной обработкой через 5 дней давало 60%-ную выживаемость (в контроле выживало 15,4% рыб) [48].

Предлагаются биологические методы борьбы с возбудителем и аэромонозом рыб в прудовых хозяйствах [49, 50]. К бактерии *A. hydrophila* выделено 8 фагов, из них фag АН-1 обладал высокой лизирующей способностью. Образование фаговых частиц начиналось через 50 мин. после введения в культуру *A. hydrophila* и заканчивалось через 100 мин. Испытаны экстракты из оболочечника (*Ecteinascidia turbinata*) в концентрации 10 мг/мл для предупреждения заражения американского угря бактерией *A. hydrophila*. При внутрибрюшинной инъекции 0,5 мл экстракта через 2 дня после заражения резко увеличивалась фагоцитарная активность и устойчивость против болезни, а при внутривенном введении повышались титры антител. Показана возможность использования этого экстракта для лечения инфекционных болезней угря, при этом природа защитного действия экстракта зависит от времени и способа введения [55].

Для проведения профилактических обработок карпов в широких масштабах предлагается замена сухой формы детреомицина готовыми растворами препарата в ампулах (по 5 и 10 мл с содержанием 1,25 и 2,5 г растворенного детреомицина соответственно). Содержимое ампулы растворяют в воде при температуре около 50°C, причем температура раствора не должна опускаться ниже 25°C. Использование детреомицина в ампулах для массовых профилактических инъекций рыб имеет следующие преимущества: возможность растворения необходимого количества детреомицина без взвешивания, исключение использования этилового спирта в качестве растворителя и исключение использования водяной бани в полевых условиях [51].

Предлагается также гранулированный корм на белковой основе. Смесь из 2 г фуразолидона, 200 мг окситетрациклина и 50 мг витамина В₁₂ вносится в количестве 500 мг/кг гранул [52]. В качестве лечебного и профилактического средства против аэромоноза получает распространение фуразолидон [53]. С профилактической целью его применяют из расчета на 10 кг корма: производителям и ремонтным карпам—0,4 г., годовикам и двухлеткам — 0,3 г, сеголеткам — 3,0 г. С лечебной целью этот препарат скармливают в количестве 6,0 г на 10 кг корма.

Имеется опыт оздоровления рыбоводного хозяйства от краснухи карпов методом заводского получения здорового потомства от неблагополучных производителей, не имеющих клинических признаков заболевания [54].

1.3. Аэромоноз лососевых

Аэромоноз (фурункулез) лососевых характеризуется септициемией, образованием нарывов в мышечной ткани, которые вскрываются и превращаются в красноватые язвы. Болезнь протекает молниеносно, остро, подостро и хронически, и в зависимости от течения может быть быстрое развитие патологического процесса, сопровождающееся массовой гибелью рыб.

Кроме лососевых, фурункулез регистрируется у многих других видов рыб. Изучение болезни и ее возбудителя, лечения и профилактики продолжается повсеместно.

Фурункулез вызывает большие потери на некоторых фермах Шотландии, выращивающих атлантического лосося. Считают, что эта болезнь может стать большой экономической проблемой, если не принимать мер борьбы с нею. Установлено широкое но-

сительство *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* и *A. salmonicida* subsp. *masoucida* среди диких лососевых рыб и среди лососей на рыбзаводах и фермах. При этом если фурункулез не проявляется среди рыб клинически, возбудитель имеет низкую или среднюю вирулентность, которая повышается при повторяющихся случаях заболевания. В борьбе с фурункулезом следует предупреждать попадание возбудителя в хозяйство с дикой рыбой, не допускать стрессов лососевых, применять разнообразные химиотерапевтические средства и при необходимости вводить карантинные мероприятия [61].

На Хоккайдо в 1979 г. частоту выделения возбудителя фурункулеза определяли путем исследования почек анадромных лососевых рыб. В течение сентября–ноября из 18 рек и одного озера исследовали 2028 рыб четырех видов: кету, горбушу, симу и нерку. Из 1290 экз. кеты, выловленной в 12 реках, *A. salmonicida* выделили от 148 рыб, при этом частота выделения в каждой реке колебалась от 0 до 60,5%, и была выше у рыб в возрасте 3–4 лет. Бактерию выделили также от 66 из 562 экз. горбуши из девяти рек. В одной из рек частота выделения составила 36,6%. У исследованной кеты и горбуши признаков фурункулеза не отмечали. От симы (116 экз.), нерки (60 экз.) и других пресноводных рыб (226 экз.) выделить *A. salmonicida* не удалось [62].

На одном из рыбоводных предприятий Южной Каролины наблюдали заболевание выращиваемых американских угрей. Рыб с кожными поражениями на теле исследовали бактериологически и выделили бактерию *A. salmonicida*, которая оказалась патогенной для здоровых угрей средней массой 172 г при подкожном введении 10^4 микробных клеток. У подопытных рыб развивались кожные поражения, из которых вновь изолировали исходную культуру [64].

От уклей и плотвы из верхнебаварского озера выделяли бактерию, которая по биохимическим и серологическим свойствам относилась к *A. salmonicida* и была высокопатогенной для подопытных форелей и карпов. Заболевание протекало как "пятнистая эпизоотия уклей" [65].

При изучении свойств возбудителя установлено, что температура инкубации (11, 18 или 28°C) по существу не влияет на биохимические реакции как вирулентных, так и авирулентных форм *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, однако при более высоких температурах увеличивается устойчивость к новобицину [63]. Патогенность бактерии ее аутоагглютинацию связывают с наличием дополнительной оболочки (А-слоя). Бе-

лок самоагглютинирующих штаммов имеет в основном молекулярную массу 54×10^3 Д, а в неагглютинирующих штаммах такой белок или отсутствует, или имеется в незначительных количествах. Изменение питательной среды может приводить к почти полному исчезновению белка дополнительной оболочки клетки и одновременно — к потере свойства аутоагглютинации, в связи с чем рассматривают причинную связь между этим белком и феноменом аутоагглютинации. Гель-иммунорадиологическим и иммунологическим методами показано, что белки дополнительной оболочки клеток штаммов *A. salmonicida*, являются иммунологически родственными [66, 69].

Очищенный белок дополнительной клеточной оболочки не-растворим в воде, имеет последовательность концевых аминокислот как H_2N -аспарагин-валин-лейцин-лейцин. Серусодержащие аминокислоты и остатки сахаров в нем не установлены. Его аминокислотный состав имеет большое сходство с составом известных белков, имеющих в дополнительных поверхностных слоях других бактерий [67].

Как патогенные, так и авирулентные культуры возбудителя являются антигенно однородными. В РДП между антигеном из озвученного вирулентного штамма и иммунсывороткой против обработанного ультразвуком вирулентного штамма, адсорбированной гомологичным авирулентным штаммом, образуется одна линия преципитации. При использовании в РА перекрестно адсорбированных сывороток также не находят серологических различий между изолятами [68].

Антигенное родство разных штаммов позволило испытать метод флуоресцирующих антител в диагностике фурункулеза. Он оказался более чувствительным по сравнению с бактериологическим исследованием: из 57 проб от больных рыб в 22 случаях (38%) получены положительные результаты по иммунофлуоресценции и только в 8 случаях (14%) культуральным методом. Однако в отличие от культурального, метод иммунофлуоресценции не дает возможности дифференцировать *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* от возбудителя эритродерматита *A. salmonicida* subsp. *anacrogenes* [70].

После болезни, как и после экспериментального заражения, у лососевых рыб образуются агглютинины, наличие которых в сыворотке крови не служит показателем устойчивости рыб к заражению [88], но позволяет предполагать их контакт со специфическим возбудителем [89].

Интересно отметить, что при введении сывороток радужных форелей, вакцинированных вирулентными и авирулентными куль-

турами *A. salmonicida*, палия одинаково надежно предохранялась против контрольного заражения концентрированной взвесью бактерии : (10^9 клеток/мл). После иммунизации палии промытой и непромытой, убитой формалином вирулентной культурой *A. salmonicida* отмечали через 21 день наличие агглютининов в титрах 14 (промытые клетки) и 205 (непромытые клетки), однако при заражении вирулентной культурой рыбы погибали (95–100%) [90].

Разрабатывали стандартизированную и воспроизводимую модель экспериментального фурункулеза у радужной форели, при которой в качестве инфекционной дозы ($LD_{50} = 200\text{--}2000$ микробных клеток, вводимых внутримышечно) использовали штаммы *A. salmonicida*, вирулентность которых поддерживали или повышали путем пассажей на сеголетках массой 10–15 г (здоровой рыбе вводили 0,1 мл зараженной ткани почек внутримышечно). Количество жизнеспособных клеток определяли путем посева на агаровую среду, при этом выяснили, что точное их количество можно определить только в начале экспонентной фазы роста в бульонных культурах. Методика заражения состояла в том, что 30 рыбам, содержащимся при температуре 15°C , вводили внутримышечно по $10 LD_{50}$ *A. salmonicida* и учет гибели вели в течение 10 дней. При внутрибрюшинном введении результаты заражения были хуже. Протективные тесты (скармливание трибриссена в течение 8 дней/28 мг сульфадиазина и 5,6 мг триметоприма на 1 кг рыбы/ или внутримышечное введение 1 мг тетрациклина на рыбу) показали ценность этой модели [71].

Разрабатывался также метод экспериментального заражения молоди лососевых бактерией *A. salmonicida* путем обработки рыбы в ванне. Отмечается необходимость выращивания бактерии в такой среде, в которой не появляются "гладкие" (авирулентные) варианты. Вирулентность бактерии резко падает при длительной инкубации, поэтому следует использовать 24-часовые культуры. Инкубация при температуре 25°C приводит к резкой потере вирулентности, однако при хранении при -60°C вирулентность сохраняется до 743 дней. Мелкая молодь кижуча, кеты, нерки, чавычи и горбуши более чувствительна к заражению, чем крупная рыба. Радужная форель более устойчива к заражению, чем другие лососевые [72]. Заражение молоди гольца возможно путем 15-минутного выдерживания в воде, содержащей 10^6 клеток/мл, и 1-минутной экспозиции при концентрации 10^9 клеток/мл. В течение 14 дней после заражения смертность составляла 70–100% и 74–

88%. Нанесение возбудителя на очищенную от чешуи кожу (10^9 клеток/мл) или содержание рыбы в воде с 10^5 клеток/мл приводило через 7 дней к гибели 50 и 60% молоди, однако скормливание бактерий и нанесение на жабры не вызывало клинического проявления инфекции [73]. Для лосося-амаго массой 34,8 – 40,6 г при внутримышечном введении *A. salmonicida* средняя летальная доза составляет $4,3-5,1 \times 10^0$, а при внутрибрюшинном введении – $3,0-4,5 \times 10^3$ колониеобразующих единиц на рыбу. При заражении через воду LD_{50} для амаго массой 15,7 – 15,8 г равна $2,2-2,7 \times 10^6$ единиц/мл [74].

Показана связь между температурой воды и заражением рыбы патогенными аэромонадами. При внутрибрюшинном или внутримышечном введении культуры *A. salmonicida* молоди лосося, кижуча и чавычи смертность за 23-дневный период колебалась от 2 до 26% при температуре 3,9 и 6,7°C, а при температуре 20,5°C через 2–3 дня погибало 93–100% рыб [75].

Пути внедрения *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* определяли в опытах с годовиками симы (*Oncorhynchus masou*). При внутрибрюшинном и внутримышечном введениях бактерии (10^5 клеток на рыбу) погибали все зараженные рыбы. При погружении на 30 мин в суспензию бактериальных клеток (10^8 /мл) гибель наступала у 80% рыб с отрезанным хвостовым и у 60% рыб с отрезанным спинным плавником, тогда как неповрежденные годовики оставались здоровыми. При введении бактериальной культуры (10^8 клеток на рыбу) в желудок погибало 50%, а в кишечник – 10% рыб. Таким образом, эта бактерия не проникает в организм рыб через неповрежденные жабры и кожу. Заражение симы возможно через пищеварительный тракт и поврежденную кожу [76]. Заражение скарифицированных участков кожи радужной форели ахромогенной культурой *A. salmonicida* вызывает синдром, сходный с синдромом, который наблюдают у карповых рыб. Гистологические исследования показали, что присутствие этих бактерий полностью подавляет миграцию клеток эпидермиса, а впоследствии приводит к слущиванию эпидермиса и образованию язвы [77].

Локализацию живой и убитой формалином культуры *A. salmonicida* в тканях радужной форели прослеживали в течение 5 дней после заражения. После внутрибрюшинной инъекции живые и убитые клетки находили в селезенке, печени и кишечнике, после орального введения – почти исключительно в кишечнике, а после прямого погружения – в селезенке и почках [92].

Разрабатываются средства и методы специфической профилактики фурункулеза. Иммуногенность возбудителя связывают с белком дополнительной оболочки вирулентных бактерий (по-видимому, А-белок) и с внеклеточными продуктами их роста [78].

А-белок не разрушается формалином или прогреванием при 50°C в течение 60 мин, но частично инактивируется протеолитическими энзимами и разрушается детергентами. Исследованы некоторые свойства внеклеточных продуктов роста *A. salmonicida*. При осаждении сернокислым аммонием и этанолом и последующей хроматографии на колонке DEAE Saphadex А -25 из надосадочной жидкости 5-суточных бульонных культур (испытаны один атипичный, один авирулентный и два вирулентных штамма) получали четыре протеин-содержащих фракции (1, 2, 3 и 4) и проверяли их иммуногенные свойства путем внутрибрюшинного введения палии в дозе 5 мкг белка на рыбу. Палия становилась устойчивой против последующего экспериментального парентерального заражения только после введения фракции-4. Иммунизация рыб этой фракцией с неполным адъювантом Фрейнда не повышала защитной реакции. При контактном заражении эффективными были фракции-4 как вирулентных, так и авирулентного и атипичного штаммов. Фракция-4 является гликопротеином и имеет молекулярную массу 66×10^3 Д. С кроличьей иммунсывороткой, полученной против фракции-4, наблюдали в РДП одну линию преципитации с гомологичным антигеном, но эта сыворотка не давала перекрестных реакций с очищенными эндотоксинами и протеином А-слоя. Тем не менее с внеклеточными фракциями связывают вирулентные свойства аэромонады. Фракция-2 обладает лейкоцито- и протеолитической активностью. Для клеток RTG-2 более токсичны сырой экстракт и фракции -2 и 3 из вирулентных изолятов, чем такие же фракции из апатогенных культур. При внутримышечном введении препаратов из вирулентных изолятов, у палии и атлантического лосося появлялись кровоизлияния, патологоанатомические изменения и наступала гибель рыб. Радужная форель была более устойчивой, и патологические изменения у нее появлялись только после введения фракции-2 [79, 80].

В полевых опытах на рыбоводной ферме на востоке Англии испытывали моно- и поливалентные вакцины, приготовленные из целых клеток и токсоида *A. salmonicida*. Отмечен первоначальный успех от моновалентной вакцины, при применении которой осталось в живых 65% ручьевой форели (в невакцинированной контрольной группе сохранилось 13% рыб). Вакцины.

аводили малькам с кормом через 45 дней после выхода из икры в течение 30 дней [81].

Оценивали эффективность вакцинации чавычи массой 4 г и кижуча массой 8 г методом погружения в растворы формолвакцины, приготовленной из *A. salmonicida*. Коммерческую вакцину разводили 1:2 и 1:4. При внутрибрюшинной инъекции вводили 0,1 мл/рыбу, а при погружении соотношение было 990 г рыбы/л раствора. В общем 2 – 5-минутные погружения рыбы в растворы вакцины были менее эффективными, чем внутрибрюшинные инъекции, однако напряженность иммунитета повышалась при повторных вакцинациях погружением. При погружении в раствор вакцины 1:4, а затем через 14 дней – в раствор вакцины 1:2 результаты были лучше, чем наоборот [82].

При внутрибрюшинном введении авирулентного штамма *A. salmonicida* у палии также возникал иммунитет. После введения 3×10^6 – 3×10^5 клеток гибель рыб при заражении вирулентной культурой составляла 66%, а после введения 10^4 – 3×10^1 клеток – 39%. В контрольной группе гибель составляла 88%. После погружения на 60 с в раствор авирулентной культуры, содержащей $2,3 \times 10^9$ клеток, смертность палии при контрольном заражении составляла 44%, а контрольных рыб – 94%. При вакцинации атлантического лосося путем погружения на 60 с в раствор авирулентной культуры гибель рыб при заражении составляла 12,5 – 14,0%, тогда как среди контрольных рыб она была равна 87,5 – 92,0%. Опыты в аквариальных условиях проведены на палии средней массой 34,7 г и на лососях средней массой 28,6 г [83].

Несмотря на указанные положительные результаты, в настоящее время еще нет достаточно эффективных вакцин против фурункулеза, которые применяли бы в практических условиях [84]. В связи с этим проверяются существующие и испытываются новые средства для лечения и профилактики болезни.

Изучали лечебные свойства флюмеквина с применением модели экспериментального фурункулеза. Опыты проводили на радужной и ручьевой форели и использовали два патогенных штамма *A. salmonicida*, LD₅₀, которых первоначально составляла 400 – 800 бактерий на рыбу массой 5–13 г при внутримышечном заражении. Подопытных рыб делили на 3 группы и давали им с кормом флюмикс (порошок с 3% флюмеквина) в количестве 20, 40 и 80 г на 100 кг массы рыбы в день в течение 6 дней. Форель содержали в проточных бассейнах при температуре воды 15°C и вводили внутримышечно 1 или 10 LD₅₀ бактерий. Профилактическое действие отмечали при

даче препарата одновременно с заражением рыбы. При даче флюмикса через 20 часов после внутримышечного заражения эффективность лечения была очень низкой. Практически рекомендуется вносить флюмикс в корм в дозе 40 г/кг и скормливать его двумя дачами в течение дня из расчета 1% от массы рыбы [85]. В опытах *in vitro* на 25 штаммах бактерии установлено, что флумеквин, нитрофурантион и ампициллин проявляют значительную бактериостатическую активность против *A. salmonicida*, тогда как хлорамфеникол не эффективен, а цетримид, хлоргексидин, йодированный поливидон, мертиолат и бром-диметиллаурилбензиламмоний в разной степени обладали антисептическими и дезинфекционными свойствами [86]. Оксолиновая кислота оказалась эффективной для предупреждения фурункулеза у кумжи и радужной форели. При дозе 5 мг/кг рыбы/день в течение 10 дней выживаемость зараженных рыб составляла 96 – 98% против 69–74% в контроле [87].

Получен также положительный результат в 8 из 10 полевых опытов лечения фурункулеза у четырех видов лососевых рыб сульфамидом R05 – 0037 (5 частей сульфадиметоксина и 1 часть орметоприма). Препарат давали рыбе с кормом в течение 5 дней в дозе 50 мг/кг рыбы/день [91].

2. Псевдомонозы

Псевдомонады являются распространенными бактериями, обитающими как в пресных, так и морских водах. При определенных условиях отдельные виды вызывают заболевания рыб, протекающие с разнообразными клиническими признаками.

Среди морских языков (*Solea solea*), выращиваемых в искусственных условиях, бактерии из рода *Pseudomonas* вызывают гниение хвоста и образование нарывов. Эти фурункулы (до 10 мм диаметром) могут исчезать после перевода рыбы в чистую воду. Возможно лечение хлорамфениколом (100 мг/рыбу) [102].

Среди пестрых толстолобиков массой около 500 г наблюдали псевдомоноз в прудах Югославии. Массовая гибель двухлеток наступала после отлова, перевозки и содержания рыб при температуре воды ниже 10°C. У больных рыб отмечали кожные поражения, анемию, кровоизлияния и отеки во внутренних органах. В почках находили большое количество *P. fluorescens*. При заражении толстолобиков и карпов внутри-

брюшинно и путем выдерживания в воде с бактериальной культурой установлена высокая патогенность выделенной бактерии [93]. У белых и пестрых толстолобиков в зимовальных прудах некоторых рыбоводных хозяйств Венгрии, также регистрировали септицемию, связанную с *P.fluorescens*. У рыб отмечали кровоизлияния на коже, плавниках, во рту и внутренних органах. Среди совместно зимующих карпов случаев заболевания не наблюдали. При экспериментальном заражении штаммами флуоресцентом, выделенными от больных рыб, у сеголеток белого толстолобика развивались кровоизлияния, и они погибали, но заразить карпов не удалось. Бактерии хорошо росли при температуре 4⁰С, были капсульными как в культуре, так и в органах больных рыб [94].

Кроме *P.fluorescens*, для рыб могут быть патогенными *P.capsulata*, *P.putida*, *P.cuprinisepticum*, *P.chlororaphis*, *P.auguilliseptica* и др. Как самостоятельные болезни в настоящее время описаны септический псевдомоноз рыб и краснопятнистая болезнь угрей.

2.1. Септический псевдомоноз рыб

Данное заболевание наблюдают среди рыб как правило зимой в прудах и зимовальных комплексах. У больных карпов отмечают ерошение чешуи, пучеглазие, увеличение брюшка, очаговые кровоизлияния на поверхности тела. При вскрытии в брюшной полости находят прозрачную или кровянистую слизистую жидкость; печень бледная с участками кровоизлияний, селезенка сильно увеличена, почки дряблые с точечными кровоизлияниями, слизистая кишечника гиперемирована. Рыба вялая, плавает беспорядочно, слабо реагирует на внешние раздражители.

Помимо карпов заболевание наблюдают у толстолобиков и буффало. У толстолобиков имеются увеличение брюшка, кровоизлияния (чаще у основания грудных плавников и в белочную оболочку глаза), у буффало-кровоизлияния, увеличение брюшка и сухость хвостового стебля.

Возбудителем болезни является *P.cuprinisepticum*. Эта бактерия представляет подвижную, монотрихальную, грамотрицательную палочку размером 1-2 x 0,5-0,7 мкм. При росте на МПБ с pH 7,2-7,4 вызывает легкое помутнение среды, муаровые волны при встряхивании и незначительный осадок на дне пробирки. На МПА колонии в первые сутки розинчатые,

через 2-3 сут. достигают диаметра 1,5-2 мм, полупрозрачные, выпуклые, с ровными краями и гладкой поверхностью. Не ферментирует глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, маннит, дульцит, рафинозу, декстрозу, рамнозу, галактозу, сорбит, инулин и глицерин; разжижает желатин; лакмусовое молоко не изменяет; сероводород и индол не образует; не редуцирует нитраты. Оптимум роста на питательных средах при температуре 25°C.

Массовое количество бактерий в посевах из крови и внутренних органов свидетельствует о септическом процессе у больных рыб [95].

Воспроизведение болезни у сеголеток карпа возможно при любом способе введения возбудителя: внутрибрюшинно (10 млн. клеток/рыбу), перорально (1 млрд. клеток), внесением суспензии бактерий в воду (10 млрд. клеток/100 л воды в течение трех дней), при этом клиническая картина болезни не отличается от наблюдаемой в естественных условиях [96].

Разработана профилактика псевдомоноза рыб в условиях зимовального комплекса [97].

2.2. Краснопятнистая болезнь угрей

Это заболевание является весьма опасным для угрей, выращиваемых в искусственных условиях и широко обсуждается в Японии. Оно распространяется в прудах с солоноватой водой при температуре воды ниже 20°C (весной и осенью), вызывает большую смертность, но прекращается при повышении температуры до 27°C. У больных угрей наблюдают пятнистые кровоизлияния на поверхности тела и плавниках, набухшую печень, атрофию селезенки, почек и перикардит. Гистологически в дерме подкожной жировой и межмышечной тканях, в сердце находят воспалительную реакцию в ответ на размножение возбудителя; в печени - застойный отек и дегенерация гепатоцитов, в селезенке - серозный отек и клеточную пролиферацию; в почках - воспаление клубочков и атрофию гемопоэтической ткани.

Возбудителем болезни является *P. anguilliseptica*. Эта бактерия хорошо растет в средах с pH 7-9 при 0,5-1% концентрации хлористого натрия и температуре 15-20°C. При этих температурах она выживает более 200 дней в морской воде (неразбавленной или разбавленной пресной водой), а при 27°C - более 40 дней. Изучали иммунную реакцию японского уг-

ря на убитые формалином клетки *P. anugilliseptica*. Антиген вводили рыбе массой 70 г 1–2 раза внутримышечно из расчета 4 мг/100 г рыбы. Подопытные угри не имели естественно приобретенных специфических агглютининов, но после вакцинации и содержании рыбы при температуре воды 15–28°C агглютинирующие антитела появлялись через 2 недели и сохранялись более 7 нед. (максимальный титр 1:256). При 10°C агглютинины у рыб можно было определить только через 7 нед. (титр. 1:2). У угрей, иммунизированных при 20°C, антитела сохранялись более 5 мес. зимовки с минимальной температурой 7°C. Применение вместе с вакциной полного адьюванта Фрейнда вызывало повышение титра агглютининов до 1:4096. Вакцинированные угри выдерживали заражение вирулентной культурой возбудителя, и достаточно сильный иммунитет сохранялся у них также после зимовки [98].

Данное заболевание установлено также среди европейских угрей. В 1981 г. В Шотландии выделили два штамма, которые оказались идентичными с японским референтным штаммом № 2, не имеющим антигена К (тип К⁻). Вспышка болезни случилась в экспериментальной рециркуляционной системе, в которой содержали 3900 подрошенных угрей (всего 59 кг) и посадили около 70 тыс. стекловидных угрей средней массой 200 мг из р. Северн. Через три недели погибло 96% стекловидных и 3,9% подрошенных угрей. У них отмечали кровотокающие точечные ранки на поверхности брюшка.

После повышения температуры воды до 26–27°C в течение 2 нед. с последующим понижением до первоначального уровня (21°C) вспышки болезни не было в течение 5 мес. [99, 100, 101].

3. Вибриоз

Вибрионы и вибриоз распространены среди разных видов рыб в морских и солоноватых водах, особенно при выращивании в садках и бассейнах. Имеются также сообщения о вспышках этой болезни среди радужной форели в пресной воде. Полагают, что вибриоз появляется в этом случае в связи с кормлением форели сырой морской рыбой. При этом возникновение болезни связывают с температурой воды выше 15°C, рН более 8,0, насыщенностью воды кислородом менее 70%, БПК выше 2 мг/л и наличием общего азота более 1 мг/л [103, 104].

Возбудителем являются бактерии рода *Vibrio*. Наиболее

распространенным является *Vibrio anguillarum* Bergmann (биотипы 1 и 2), который в последнее время предложено рассматривать как два вида: *V. anguillarum* и *V. ordalii* sp. nov. [105, 106]. Это разделение основывается на различиях культуральных, биохимических свойств и последовательной связи в ДНК. Фенотипически *V. ordalii* (бывший второй биотип) отличается от *V. anguillarum* (бывший первый биотип) отрицательными реакциями Фогес-Проскауера, на аргинин в среде Мюллера и цитраттеста Симмонса-Христенсена, отсутствием гидролиза крахмала, липазной активности и роста при температуре 37°C, а также неспособностью ферментировать целлобиозу, глицерин, сорбит и трегалозу. Генотипически штаммы *V. ordalii* характеризовались высокой гомологией ДНК (83-100% внутри группы и лишь 58-69% родства к *V. anguillarum*), тогда как штаммы *V. anguillarum* имели гомологию внутри группы около 70%, а к *V. ordalii* -53-67%. Оба эти вибрионы не являются родственными с *V. parahaemolyticus* и *V. alginolyticus*. Типовым штаммом (голотипом) *V. ordalii* является штамм АТС 33509. Имеются также серологические и патогенные различия [107]. Среднее содержание гуанина+цитозина в ДНК разных штаммов *V. anguillarum* колеблется от 45,5 до 46,0, а у штаммов *V. ordalii* оно составляет 48,9 [110].

В антигенном отношении *V. anguillarum* не является однородным. При типировании вибрионов, выделенных от аю (263 штамма), радужной форели (2) и японского угря (2) в перекрестной РА и перекрестной адсорбции установлено 6 серотипов. 241 штамм от аю и 2 штамма от радужной форели относились к серотипу А, 6 штаммов от аю и 1 штамм от угря - к серотипу В, 12 штаммов от аю - к серотипу С, 3 штамма от аю - к серотипу D, 1 штамм от аю - к серотипу Е и 1 штамм от угря - к серотипу F. Вибрионы 1-го типа (по общепринятой классификации) входят в серогруппу С, а вибрионы 2-го типа - в серогруппу А [109]. Возможна смена серотипов в организме рыб. Так, в первую половину времени выращивания в морской воде у аю и в других пробах обнаруживали вибрионы серотипа А, а во вторую половину - вибрионы серотипа С. Если рыб пересаживали из морских в пресноводные пруды, наблюдали появление вибриоза и вновь выделяли вибрионы серотипа А. У вибрионов серотипа А, выделенных от аю, выращиваемых в морской и пресной воде, отмечены некоторые различия их биохимических свойств. Эти штаммы были патогенными для аю и лосося амаго. Штаммы серотипа А, выделенные от аю из морской воды, хорошо

росли при температуре 20°C в среде с 2–3% NaCl, тогда как штаммы серотипа С в такой среде не росли. Штаммы серотипа А, выделенные от аю из пресной воды, лучше росли в среде с 1% NaCl. *V. anguillarum* ни разу не выделяли из чистой морской воды и вновь выведенных аю, поэтому предполагают, что источником инфекции является используемый для кормления ротифер. Лечебная обработка ротифера перед скормливанием молоди аю считается одним из способов контроля вибриоза у аю [112].

Патогенными для рыб являются также *V. parahaemolyticus* (типы 1 и 2), *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* (био группы 1 и 2) и другие вибрионы [108].

Течение и клиническая картина вибриоза варьирует у разных видов рыб, но имеет некоторые общие признаки (кровоизлияния, некрозы и язвы на поверхности тела), из-за которых его часто описывают как "красную болезнь", "краснуху".

У угрей наблюдают кровоизлияния и воспаленные участки кожи, гиперемию плавников и вокруг ануса, образование язв на поверхности тела. Радужная форель в начале вспышки погибает без клинических признаков, но отказывается от корма, снижает плавательную активность. Затем у рыб появляются очаговое ерошение чешуи, гиперемированные участки и припухлости размером 2,5 – 3 см и высотой около 0,5 см, позднее возникают язвы темно-красного цвета. Края спинного плавника некротизируются, у отдельных рыб вздутое брюшко [113]. У атлантического лосося регистрируют обширные кровоизлияния во внутренние органы и мышцы ("болезнь Хитра"). Этот геморрагический синдром наблюдали при температуре воды 4–8°C [114, 119]. Вибриоз у желтохвостов протекает с кровоизлияниями и некрозами кожи и мышц, разрушением плавников, помутнением или гиперемией глаз [115]. У аю и морских лещей отмечают септицемические явления [116]. У камбаловых рыб проявляются язвы и анемия, у сайды – некротические поражения кожи, кровоизлияния в кишечнике [117]. Вибриоз у трески наблюдают как язвенный синдром, протекающий последовательно как папуло-везикулярная, эрозивная, ранняя язвенная, поздняя язвенная стадии и заживление [118].

Вибриоз может быть причиной гибели 40–70% рыб, выращиваемых в морской или солоноватой воде. Учитывая важность этой болезни в марикультуре, проводятся изыскания средств лечения и методов специфической профилактики.

В лабораторных условиях испытаны различные химиопрепараты и антибиотики. Вибрионы, выделенные от аю, чувстви-

тельны к стрептомицину, канамицину и аминобензил-пенициллину, и очень чувствительны к колистину. Они часто были устойчивыми к хлорамфениколу, тетрациклину и сульфамонотоксину [120]. Определяется отчетливая связь между серотипами вибрионов и их чувствительностью к некоторым препаратам: штаммы серотипа А были резистентными к нифурпиринолу, налидиксовой и оксолиновой кислотам, тогда как серотипы В и С были чувствительными к этим веществам [121]. Установлена пригодность замешенных хинолинов (5,7-дихлор-8-гидроксихинолина, 5,7-дихлор-8-хинолил-N-фенилкарбамата), галхинола и оксолиновой кислоты и гидрохинонов (особенно халквинола) в борьбе с вибриозом палтусов. В опытах *in vitro* и *in vivo* эти препараты быстро инактивировали изоляты *V. anguillarum* и подавляли проявление болезни у рыб [122, 123]. Чувствительность вибрионов к смеси сульфисозола с триметопримом (5:1) оказалась выше, чем к ее компонентам в отдельности. В опытах на желтохвостах и угрях, зараженных культурами *V. anguillarum*, установлена довольно высокая активность смеси при оральном введении. После однократного введения концентрация сульфисозола была сравнительно высокой в крови и почках через 3-6 ч, а триметоприма - в почках через 12-18 ч. Остаточные количества триметоприма в почках сохранялись длительное время [124]. Для лечения вибриоза рекомендуется фуразолидон в течение 5-10 дней с перерывом 1-2 дня между пятидневками из расчета 9 г/100 кг рыбы в первый день и по 7-8 г/100 кг рыбы в последующие дни [125].

Многочисленные работы по вакцинации рыб против вибриоза имеют положительные результаты. Установленная высокая иммуногенность вибрионов позволяет готовить вакцины из свежевыделенных изолятов. Вакцины можно готовить из экстрактов бактерий и из целых клеток, причем наиболее широко используется формолвакцины из клеток бактерии. Добавление в вакцину квасцов или адьюванта усиливает реакцию на антиген [126]. Введение вакцины рыбам возможно внутривентрально, орально, через анальное отверстие, методами погружения в ванну и обрызгивания.

Введение убитых вакцин через рот приводит к частичному их инактивированию желудочными соками, что установлено в опытах на нерке средней массой 5,0 г и радужной форели массой 9,5 г [127]. При введении двухвалентной вакцины радужная форель способна иммунологически одинаково реагировать против каждого серотипа [128]. При иммунизации повышает-

ся фагоцитарная активность макрофагов и опсоническое действие антител [129].

Особое значение имеют массовые методы вакцинации — простое погружение в раствор вакцины, метод гиперосмотической инфильтрации и метод обрызгивания.

Изучено влияние различных факторов на иммунизацию радужной форели методом прямого погружения в ванну с формализированной вакциной, приготовленной из меченых ^{14}C *V. anguillarum*, а также в растворимые антигены вибрионов. Рыб массой 5–25 г погружали в ванну индивидуально, затем промывали в чистой воде, измельчали и определяли степень радиоактивности в пробах тканей. Установили, что время погружения более 10 с не увеличивало всасывания вакцины. Предварительная гиперосмотическая обработка рыб (погружение на 5 сек. в 5%-ный раствор хлористого натрия) не влияло на степень всасывания даже при низких концентрациях вакцины в ванне. Отмечена вдвое большая всасывающая способность головного конца рыб по сравнению с туловищем. Всасывание вакцины уменьшается при низкой температуре и увеличивается при добавлении адъюванта (1% алюмокалиевых квасцов) или использовании растворимого антигена. Крупная рыба больше всасывает вакцины, чем мелкая [130].

После вакцинации методом прямого погружения в растворы убитых вакцин (бактеринов) против вибриоза не отмечали гибели аю средней массой 4,2 и 9,2 г во время выращивания. В качестве бактеринов использовали убитые формалином лиофилизированные вибрионы (0,94, 1,0 или 9,4 г/л) или обработанные ультразвуком клетки вибрионов (эквивалентно 1×10^8 клеток/мл). Высокий уровень защиты аю против вибриоза отмечали после погружения как в лиофилизированный, так и в озвученный бактериин. Длительность протективного иммунитета у рыб средней массой 8,0 г составляла 60 дней [131].

Противовибриозная вакцина испытана с положительным результатом на радужной форели, кижуче, чавыче, нерке, кете, горбуше, атлантическом лососе, аю, угрях и других рыбах [132, 133, 134, 135, 136, 137].

Вторым методом массовой вакцинации является обрызгивание рыб [138]. При этом рыб обрабатывают в сетчатом садке на воздухе с помощью пескоструйного насоса или другого устройства, создающего давление 70–90 psi. При перемещении рыб в лотке устройство устанавливают таким образом, чтобы обрызгивание было постоянным. С целью лучшего проникновения в вакцину добавляют небольшое количество

бентонита или другого адсорбента, а также абразивный порошок. Проверая этот метод, культуру *V. anguillarum* выращивали при 25°C в питательном бульоне при периодическом встряхивании в течение 96 ч, а затем инактивировали 0,5% формалина (24 ч при 20°C). После этого готовили 5 разновидностей вакцины: фильтрация через мембрану с порами размером 0,22 мкм; добавление 0,15 % бентонита; доведение pH до 3,0; одновременное добавление бентонита и изменение pH; убитая формалином вакцина без каких-либо добавок. Подопытные группы рыб помещали в глубокие садки и обрызгивали вакцинами в течение 5-7 сек, с помощью пескоструйного аппарата, расположенного в 20-25 см от рыбы и дающего давление 5 кг/см². Через 2 недели проводили искусственное заражение аю вирулентной культурой вибриона путем добавления в воду ($1,2 \times 10^7$ клеток/мл). Все вакцины, кроме профильтрованной, оказались высоко эффективными, поэтому нет необходимости добавлять в вакцину бентонит или изменять ее pH [139].

Таким образом, при вибриозе разработаны средства специфической профилактики и методы вакцинации, которые позволяют предупреждать потери рыб от этого заболевания.

4. Миксобактериозы

Миксобактериальные инфекции отличаются большим разнообразием клинического проявления, охватом многих видов рыб и разной тяжестью течения вспышек. Появление и распространение миксобактериозов у рыб обусловлено загрязнением воды водоемов и хозяйственной деятельностью человека. Они регистрируются в ряде стран Северной Америки, Европы и Азии. Описано пять разных болезней.

Столбиковая (столбчатая) болезнь вызывается миксобактерией *Flexibacter columnaris*. Возникает при температуре воды 13°C и выше. Вначале наступает разволокнение плавников, затем на поверхности головы и тела появляются мелкие некротические участки, покрытые серым налетом, обычно с красными краями. Нередко наблюдают обширные некрозы жабр, начинающиеся от дистальных концов жаберных лепестков. У лососевых и других холодноводных рыб болезнь иногда протекает без внешних симптомов, при этом бактерии обычно выделяют из почек.

Холодноводная болезнь (болезнь хвостового стебля) наблюдается среди лососевых при температуре воды 10°C и ниже

и характеризуется некрозом и отторжением мягких тканей стебля хвоста. Возбудителем является миксобактерия *Cytophaga psychrophila*.

Бактериальная жаберная болезнь распространена среди молоди лососевых на рыбзаводах. У больных рыб отмечают отек жабр, пролиферацию жаберного эпителия, а затем его расплавление, что приводит к нарушению дыхательной функции и, в конечном счете, — к гибели рыбы. При гниении плавников происходит их разволокнение, а затем разрушение. В развитии последних двух болезней участвуют как миксобактерии, так и аэромонады, псевдомонады и вибрионы.

Солоноватоводный миксобактериоз наблюдали среди молоди лососевых, выращиваемой в морской воде. Во всех случаях выделяли морские миксобактерии, относящиеся к роду *Sporoscytophaga* однако их значение в патологии рыб и таксономическое положение точно еще не определено. У больных чавычи и горбуши отмечали некротические участки на поверхности тела, сходные с поражениями при столбиковой болезни. У годовиков радужной форели были тяжелые некрозы верхней челюсти и полости рта, вследствие чего рыба не питалась и отход достигал 10%. Среди нерки гибель наступала в случае одновременного течения вибриоза. У кижуча наблюдали симптомы, сходные с холодноводной болезнью, и одновременно — искривления позвоночника (сколиозы и лордозы).

В последние годы изучение микробактериозов расширилось: выяснены новые виды рыб, подверженные заболеванию, изучаются свойства возбудителей и их ассоциаций, а также условия, при которых возникают болезни.

У морского языка при искусственном выращивании возникает "черно-пятнистый некроз". У рыб размером 85–120 см появляются волдыри на боковой линии верхней поверхности тела, голове, хвостовом стебле, плавниках, а затем развиваются обширные потемневшие участки с кровоизлияниями в центре. Иногда кожный эпителий отслаивается. От больных рыб выделена бактерия, патогенная для камбалы, вызывая ее гибель через 96 ч после подкожного введения при температуре 17,5°C. При сравнении с референтным штаммом *F. columnaris* (NCMB 1038) установили одинаковые свойства в части морфологии клеток, реакции на оксидазу, образования каталазы и сероводорода, гидролиза казеина, твина-20 и крахмала, разжижения желатина, разложения тирозина, а также чувствительности к ряду антибиотиков [140].

При совместном содержании больных со здоровыми рыбами

у последних также развиваются некрозы плавников и кожи. В неблагополучном бассейне болезнь распространяется быстро, и гибель рыб наступает через 1–2 дня после появления клинических признаков. Внесение песка в бассейны предупреждает распространение болезни и даже приводит к выздоровлению больных рыб [141].

При выращивании угрей нередко развивается столбиковая болезнь. Проведенными исследованиями установлена связь между нею и рыбной мукой, входящей в состав кормов. Совместное содержание с больными угрями (5 экз.) не приводило к заболеванию здоровых рыб (100 экз.), однако при добавлении корма в экспериментальный аквариум происходило заражение и гибель 79% здоровых угрей. В воде с 0,015–1% корма или входящей в его состав рыбной муки *F. columnaris* хорошо развивалась при температуре 26°C и встряхивании, образуя через 24 ч большое количество "столбиков" или кучек на поверхности частиц рыбной муки. При погружении на 1 час в такую воду со взвесью корма угри сильно инфицировались и среди них отмечалась большая гибель [142]. В поисках лечебных средств против столбиковой болезни провели опыты на угрях, зараженных путем выдерживания в течение 30 мин или 2 ч в воде, содержащей культуру *F. columnaris*. При температурах 25–26°C и 27–28°C лечебное купание зараженных угрей было эффективным в растворах нитрофуразон-натрия в концентрации 0,0625–0,125 мкг/мл, фуразолидона – 0,125–0,5 мкг/мл и окситетрациклина – 0,0625–0,125 мкг/мл. При этом более длительное время погружения рыбы и более высокая температура воды не усиливали лечебный эффект нитрофуразона-натрия и фуразолидона [143].

Среди канальных сомов столбиковая болезнь может протекать в виде смешанной инфекции с бактериальной почечной болезнью. При заражении чистой культурой ренибактерий у сомов развивались ограниченные поражения, при этом признаки болезни были неяркими и исчезали без последствий. Однако при одновременном введении культур *F. columnaris* и *Renibacterium salmoninarum* у рыб появлялись характерные признаки столбиковой болезни и наступала их гибель [144].

Бактериальную болезнь молоди красного тая (*Pagrus major*) и дальневосточного морского карася (*Acanthopagrus schlegelii*) наблюдали в Японии. Она вызывала массовую гибель рыб, от которых выделено и изучено 8 штаммов. Все они являются извитыми грамотрицательными палочками, обладают плавной подвижностью, но не имеют жгутиков. Размеры бактерий

составляют $0,5 \times 2-30$ мкм, иногда до 100 мкм длиной. Не растут в анаэробных условиях, не образуют микроцист и не разлагают углеводы (испытано 24 соединения). Количество гуанина+цитозина в ДНК в пределах 31,3-32,5%. Бактерии растут на средах, приготовленных на морской воде, и не растут на средах, содержащих только NaCl. Данный микроорганизм рассматривается как новый вид в составе рода *Flexibacter* [145]. Впоследствии было установлено, что это — *F. marinus*. На ранней стадии болезни выделяется данная бактерия, а на поздней — *Vibrio* sp. При изучении основной причины инфекции лешей заражали в разных условиях путем нанесения на поверхность тела *F. marinus* ($4,1 \times 10^4$ или $3,8 \times 10^6$ клеток /рыбу) или погружения в воду с культурой *Vibrio* sp. ($7,0 \times 10^4$ клеток/мл), а затем определяли количество бактерий на поверхности тела и во внутренних органах. У тяжело заболевших рыб регистрировали последовательное изменение микрофлоры на поверхности тела: при заражении обеими бактериями количество *F. marinus* уменьшалось, а количество *Vibrio* sp. постепенно увеличивалось. Заражение только вибрионами увеличивало количество их на поверхности тела, но не приводило к развитию болезни. Предполагается, что заболевание происходит вследствие роста и инвазии *F. marinus* на поверхности тела и становится тяжелым при последующей инфекции вибрионами на том же самом месте [157]. Определенная смена микрофлоры установлена также у больных угрей и тилапии: в сентябре-октябре от рыб обычно выделяли *F. columnaris*, а в марте-апреле — *Flexibacter* sp. [158].

Миксобактерии поражают также карпов [146]. В Венгрии наблюдали 20 вспышек жаберной болезни среди карпов и исследовали жабры 100 рыб разных возрастных групп. На основании обследований установили, что частота миксобактериальной жаберной болезни составляла 0-50% (в среднем 5-10%). Появлению миксобактерий предшествовали стрессовые условия (высокие температура и концентрация аммиака, щелочная pH воды). Из здоровых и пораженных жабр выделяли разные бактерии, но при экспериментальном заражении типичные симптомы болезни вызывала миксобактерия, предварительно идентифицированная как *F. columnaris*. Изучили физиологические, биохимические свойства и антибиотико-устойчивость восьми штаммов миксобактерии. Искусственное заражение рыб было возможным при нанесении миксобактерий на жабры, погружении карпов в воду, содержащую миксобактерии, а также при

погружении рыб в такую же ванну после предварительного погружения жабр. Результаты заражения зависели от температуры воды, продолжительности выдерживания в ванне и состояния рыбы. Миксобактериальную болезнь жабр можно профилировать путем инъекции или скармливания хлорамфеникола, окситетрациклина или антибиотика "Х" [147].

Среди молодежи лососевых рыб по-прежнему описывают случаи миксобактериозов. При гниении плавников у молодежи атлантического лосося резко увеличивается количество бактерий в пораженной ткани ($2,0 \times 10^5$ /г против $2,5 \times 10^3$ /г у здоровых рыб), тогда как в воде их количество остается постоянным как летом, так и зимой (75–400 бактерий/мл). Преобладают *Flexibacter* и *A. salmonicida* (50–90% общего количества выделенных культур), особенно при низких температурах воды. Сделан вывод, что первичной причиной гниения плавников является стресс (низкая температура воды, возможно также — недостаточное питание и скученность), а затем действие разных видов бактерий, поражающих плавниковую ткань [148, 149].

При жаберной болезни сравнили морфологические, физиологические и серологические свойства 15 культур нитевидных бактерий, выделенных от лососей в Японии (5 культур) и США. За исключением некоторых небольших различий (рост при разных температурах и на средах с различным количеством солей) каждая географическая группа культур была одинаковой. Однако серологически японские и орегонские штаммы различались между собой, хотя и имели один общий антиген. При добавлении в воду, все культуры быстро поселялись и разрастались на жаберном эпителии молодежи радужной форели массой 0,2 – 4,0 г, но лишь в отдельных опытах отмечали гибель рыб от жаберной болезни [150, 156].

При выращивании сеголеток атлантического лосося наблюдают "седловидную" болезнь (лордоз), которую связывают с грамотрицательной, гибкой бактерией, отмечаемой в поражениях. Предполагают, что бактерии проникают в кожу через спинной плавник и распространяются по соединительной и коллагеновой ткани. В верхних слоях кожи и отдельных чешуйках образуются струпы, в результате чего на боках тела ниже спинного плавника образуются симметричные полосы обесцвечивания. Бактерии проникают в мышечные волокна через сарколемму и разрушают их. Выделенная бактерия идентифицирована как *F. columnaris*. При экспериментальном заражении здоровых пестряток лосося эта бактерия вызывала типичное

заболевание; и ее вновь выделяли от подопытных рыб. Биопроба была положительной при температуре воды 20°C и было необходимо повреждать эпидермис рыб (интактные особи не заболевали). Гистологически установили, что *F. columnaris* поражала кожу и подлежащую мускулатуру, однако ее выделяли также из почек некоторых больных рыб [151].

Миксобактериоз отмечен также в нашей стране у радужной форели и балтийского лосося. Он возникает обычно в июне-июле при температуре воды выше 18°C, а массовые вспышки проявляются при 20–23°C. Опасная для сеголеток и годовиков лососевых, болезнь характеризуется появлением на поверхности тела серых пятен, которые в области спинного плавника сливаются и образуют как бы серый пояс. При лечении болезни были эффективными трипафлавин и медный купорос [152, 153, 154]. Холодноводная болезнь была установлена у дальневосточных лососей [155].

5. Стрептококкозы

Род *Streptococcus* представляет сравнительно крупную группу микроорганизмов (24 вида), имеющих сферическую форму и располагающихся цепочками. Они широко распространены в природе, являются сапрофитной или нормальной микрофлорой, а также вызывают заболевания человека, животных и рыб. При идентификации и классификации стрептококков важными являются три общих критерия: гемолиз, антигенная структура и биохимические свойства. Для идентификации стрептококков, выделенных от больных рыб, применили и оценили систему API 20 STREP. Эта система позволила идентифицировать типовые штаммы, но не клинические изоляты [159].

Среди рыб редко наблюдают стрептококковые инфекции, однако с 1974 г. при промышленном выращивании желтохвостов в Японии эта болезнь регистрируется почти во всех районах страны, вызывая значительный экономический ущерб. У больных рыб отмечают экзофтальмию, помутнение роговицы и покраснение глазного яблока, гиперемию и гнойные узелки на внутренних поверхностях жаберных крышек и нёба, а также на хвостовом стебле и у оснований плавников. Внутренние органы увеличены, печень бледная, эпикард и брюшина воспалены. В крови увеличивается количество нейтрофилов, лимфоцитов и глюкозы, снижается уровень N-мочевины, тогда как количество эритроцитов и гемоглобина, общего белка и его фракций,

глутамат-оксалоацетат трансминазы и глутамат-пируват трансминазы не изменяется [161, 162].

Возбудителем болезни является *Streptococcus* sp., таксономическое положение которого пока точно не определено. Его свойства сходны со свойствами *Str. faecalis* и *Str. faecium*, однако он не реагирует с иммунсыворотками против стрептококков группы D. Растет при температурах 10–45°C (оптимум 20–37°C) в средах с концентраций хлористого натрия до 7% (лучше 0%), и pH 3,5 – 10,0 (оптимум 7,6). Является каталазо-отрицательным, грамположительным стрептококком, растет на агаре с 40% желчи; не гидролизует соли гиппуровой кислоты, но гидролизует эскулин и аргинин; редуцирует нитраты; ферментирует маннит, салицин, трегалозу и не ферментирует лактозу, арабинозу, глицерин, рафинозу, сорбит и сахарозу, утилизирует цитраты, реакция Фогес-Проскауэра положительная. Имеет групповой специфический антиген, который отличается от антигенов группы A–H, K, L, N, O, MG и не входит в состав оболочки клетки [164]. Продуцирует токсины: LD₅₀ эндотоксина составляет 32 мг/10г рыбы, а бета-гемолизина (экзотоксин) – 79 мг/10 г рыбы [160].

Стрептококк можно выделить из морской воды, донного ила и разных видов рыб. При температуре 25°C он сохраняется в морской воде в течение 42 дней [160, 163]. Его легко изолировать из почек, селезенки и кишечника больных рыб, однако диагностическое значение имеют высевы из мозга, откуда возбудитель выделяется в чистой культуре. Окончательная идентификация проводится в пластинчатой РА с применением иммунсыворотки против типового штамма KG [163, 174].

Изучали патогенез стрептококковой инфекции у желтохвостов. При пероральном введении патогенных стрептококков инкубационный период был равен трем дням, редко – одному дню. На 4–5-й день после заражения в крови и печени рыб количество жизнеспособных бактерий достигало 10⁴ КОЕ/г ткани. Симптомы болезни появлялись через 3 дня, но уже через сутки после заражения наблюдали покраснения на внутренней поверхности жаберных крышек. На 5-й день после заражения рыбы обычно погибали, однако развитие болезненного процесса было не одинаковым. Одни рыбы погибали сразу после появления клинических признаков, другие – через несколько дней, а третьи выздоравливали без проявления резких симптомов. В хороших условиях содержания и даче высококачественного корма инфекция у зараженных рыб протекала легко, а

в плохих условиях и при недоброкачественном корме рыбы погибали вскоре после появления тяжелых симптомов заболевания [171]. Экспериментальная стрептококковая инфекция у желтохвостов сопровождается быстрым нарастанием кишечной микрофлоры, что указывает на связь заболевания с экзотоксином. В связи с этим надосадочную жидкость бульонной культуры стрептококка фракционировали с помощью сефадекса G-200 и определяли токсические фракции E, F и G. Их вводили желтохвостам массой 40-100 г через рот или подкожно отдельно или одновременно с оральным заражением живой культурой. Установлено, что после предварительного введения экзотоксина гибели подопытных желтохвостов не наступало и, через 120 ч внутренние органы и кровь почти полностью очищались от стрептококков. При одновременном введении экзотоксина и стрептококков развивалась смертельная инфекция с выраженными клиническими признаками стрептококкоза [172, 173].

Вспышки стрептококкоза связывают с кормлением желтохвостов морской рыбой. При исследовании свежей и замороженной рыбы, которую использовали как корм на фермах, стрептококки выделили от сардины, анчоуса, песчанки других кормовых рыб. При низкой температуре, особенно при замораживании, они оставались жизнеспособными в течение 6 мес. Выделенные культуры вызывали у желтохвостов типичные симптомы болезни и гибель, при этом для заражения рыб с фаршем требовалось 1 млн. микробных клеток, а для парентерального заражения - 1 млрд. клеток [162, 165, 166]. Поскольку морские рыбы являются основным источником кормления желтохвостов, рекомендуется тщательно промывать свежую и оттаянную кормовую рыбу чистой водой или, скармливая замороженную рыбу, добавлять витаминные смеси, а также готовить для желтохвостов гранулированные корма [167, 168, 182]. В качестве лечебного средства предложен эритромицин, который подавлял рост всех испытанных стрептококков (561 штамм) в концентрации 0,1 мкг/мл и меньше. Высокую антистрептококковую активность имеют также ампициллин, производные тетрациклина, изоамин, триацетил-олеандомицин и линкомицин (минимальная ингибирующая концентрация для 90% штаммов составляла 1,24 мкг/мл и ниже). Штаммам стрептококков свойственна устойчивость к налидиксовой кислоте и сульфамометоксину [169]. Вакцинация желтохвостов формолвакциной была недостаточно эффективной: иммунитет возникал при разных способах введения вакцины, однако антитела в крови не появлялись, а иммунный эффект отме-

чался только в течение двух недель после последнего введения вакцины [170].

В последние годы стрептококкоз стал в Японии тормозом в выращивании аю. Возбудителем является бета-гемолитический стрептококк, который по своим биохимическим и биологическим свойствам идентичен со стрептококком желтохвоста. У больных аю отмечают кровоизлияния на поверхности тела, в особенности на жаберных крышках, брюшке и вокруг ануса [175].

Во внутренних органах больных аю количество стрептококков составляет 10^8 – 10^9 КОЕ/г ткани. При внутримышечном введении рыбе 10^5 клеток стрептококка максимум размножения наступал через 48 ч и достигал 10^7 – 10^8 КОЕ/г ткани. В почках количество стрептококков было всегда больше, чем в других органах [176].

Случаи стрептококкоза зарегистрированы также в разных районах Японии у лосося-амаго (*Oncorhynchus rhodurus*), камбалы (*Paralichthys olivaceus*), тилапии, радужной форели. У больных рыб отмечали кровоизлияния на жаберных крышках и в глазах, экзофтальмию и помутнение роговицы [175, 178, 179]. Ранее это заболевание было описано у угрей [180]. Это заболевание может протекать одновременно с вибриозом, при этом не обязательно их одновременное течение у рыб в одном пруду хозяйства, однако для лечения необходимо использовать несколько препаратов, так как средства, подавляющие развитие вибриоза, не угнетают развития вспышек стрептококкоза и наоборот (181).

В опытах на фундулясах показано, что при внутрибрюшинном введении негемолитического стрептококка LD₅₀ составляет $1,4 \times 10^4$ клеток для 168-часового периода. Погружение на разное время в бактериальную суспензию и воздействие перед погружением гиперосмотическим (5,0%) раствором не вызывают гибели рыб. Они не заражаются и при введении бактерий в рот. Однако заражение рыб происходит, если перед погружением в суспензию им наносили раны [177].

6. Кишечная болезнь "красный рот"

Эта болезнь длительное время регистрировалась только в Северной Америке, но в последние годы она установлена также в ряде европейских стран, в Японии и Австралии [183, 184, 185, 186, 187].

Наиболее восприимчива к заболеванию радужная форель, болеют также другие рыбы. Болезнь протекает в форме септицемии. Рыба становится вялой, теряет аппетит, поверхность тела чернеет. У нее отмечают кровоизлияния вокруг рта и в ротовой полости, на жаберных крышках, у оснований плавников и в области ануса. У отдельных рыб брюшко вздутое. В связи с отеком тканей головы появляются эрозии и изъязвления в области рта, возникает односторонняя, затем двухсторонняя экзофтальмия и часто наступает разрушение глаз. При вскрытии обнаруживают кровоизлияния в печени, поджелудочной железе, плавательном пузыре, жировой ткани и брюшине, пилорических придатках, гонадах и мышцах тела. Почки, печень и селезенка увеличены, в почках кроме того могут быть некротические фокусы; кишечник воспален, с кровоизлияниями и растянут кровянисто-желтым содержимым, состоящим из некротизированной слизистой кишечника, сильно обсеменен возбудителем [188].

Возбудителем болезни является бактерия *Yersinia ruckeri*. Это грамотрицательный подвижный перитрих, который дает на твердой среде круглые, гладкие, выпуклые, маслянистые, беспигментные колонии. Бактерия имеет размер $2-7 \times 1$ мкм и представляет прямую или слегка изогнутую палочку. Она сбраживает глюкозу, маннит, мальтозу, трегалозу и глицерин и не изменяет лактозу и сахарозу; реакции Фогес-Проскауэра и на метил-рот отрицательные, продуцирует декарбоксилазу лизина и орнитина, редуцирует нитраты в нитриты, не образует индола и сероводорода.

Среди штаммов *Y. ruckeri*, выращенных на разных питательных средах, обнаружены различия по длине и форме бактериальных клеток. На основании фенотипических особенностей 12 изученных штаммов считают, что этот микроорганизм таксономически ближе к роду *Salmonella*, чем к роду *Yersinia* [200].

Болезнь может вызывать гибель 25-75% радужной форели, 5-10% палии и кумжи. Болеют также стальноголовый лосось, нерка, горбуша, кижуч и чавыча. Подостро-острое течение наблюдают обычно весной и в начале лета среди сеголеток в связи с повышением температуры воды и влиянием стресса на рыб при сортировках, пересадках и т.п. (за 1-2 мес погибает 50-70% рыб). Остро-подострое течение бывает среди годовиков осенью и ранней зимой при понижении температуры воды (за 2-6 мес. гибнет 10-50%). Хроническая инфекция часто протекает среди товарной форели и дает около 10% отхода рыб.

Скрытое бактерионосительство в неблагополучных хозяйствах может быть у 2–3% популяции радужной форели, а наличие антител – до 38% рыб [188]. Считают, что возбудитель выделяется из кишечника и передается через воду. Экспериментально на сеголетках стальноголового лосося массой 27 г показано, что при повышении температуры воды до 25°C бактерия передается восприимчивым рыбам, у 20–36% которых после этого обнаруживают возбудителя с 20 по 60-й день опыта. У иммунизированных рыб носительство бактерий в кишечнике продолжается лишь 3 дня, и они не передают возбудителя здоровой рыбе. Нестрессированные теплом бактерионосители восприимчивых сеголеток не заражают [189].

Выдерживание стальноголовых лососей средней массой $8,0 \pm 4,1$ г разные периоды времени в растворах меди приводит к повышению их восприимчивости к искусственному заражению бактерией *Y.ruckeri*. При концентрации меди 10 мкг/л восприимчивость лососей максимальная через 48 ч, а при концентрации 5 мкг/л – через 24 ч, однако процент гибели рыб при второй концентрации несколько ниже [190]. Следовательно, проявление кишечной болезни "красный рот" связано с условиями окружающей рыб среды.

Диагноз ставят на основании эпизоотологических данных, клинических признаков и патологоанатомических изменений и выделения культуры *Y.ruckeri*.

Разработан иммунопероксидазный метод идентификации возбудителя. На модели инфекционного процесса у канального сома показана его высокая чувствительность, не уступающая методу иммунофлуоресценции [199].

В качестве лечебных средств в последнее время рекомендуются: сульфамид Ro-0037 (5 частей сульфадиметоксина и 1 часть орметоприма) – 50 мг/кг рыбы с кормом в течение 5 дней; трибриссен (смесь 80 частей триметоприма и 400 частей сульфаметоксазола) – 1 мг/кг рыбы в течение 14 дней; тиамулин – 5 мг/кг рыбы в течение 14 дней [191, 192]. Профилактическим и лечебным действием обладает также оксолиновая кислота. В опытах на 5-месячной радужной форели массой 5–6 г дача препарата с кормом в дозе 10 мг/кг рыбы ежедневно в течение 10 дней предохраняла всех подопытных рыб от заражения культурой *Y.ruckeri* (10^6 клеток внутрибрюшинно) как за 24 ч до, так и через 24 ч после начала кормления, тогда как в контрольных группах погибло 76–84% форели [201].

Проводилась работа по созданию вакцин против кишечной

болезни "красный рот". Серологическое сравнение североамериканских изолятов *Y. ruckeri* показало, что по существу они являются антигенно однородными (лишь один штамм O'Leary был родственным классическому "хагерманскому" штамму, но не идентичным ему) [193]. Это облегчило приготовление вакцин, и в настоящее время в США разрешены к применению три убитых вакцины, которые используют методами погружения, автоматического погружения, обрызгивания или орально. В 1978 г. было вакцинировано 22 млн. рыб, и в результате заметно снизилась гибель от кишечной болезни "красный рот", уменьшились расходы на лечебные корма, повысился коэффициент использования кормов и сократилось время выращивания форели [194, 195, 196, 197, 198].

7. Эдвардсиеллезы

Ранее считали, что некоторые септические заболевания канального сома, угрей и других рыб вызываются одним возбудителем — бактерией *Edwardsiella tarda*. В 1981 г. опубликовано сообщение о том, что существует два вида бактерий, ответственных за заболевания разных рыб: *E. ictaluri* является причиной кишечной септицемии у канальных сомов, а *E. tarda* — эдвардсиеллеза у угрей и других рыб [202].

7.1. Кишечная септицемия канального сома

Вспышки этой болезни отмечают в США в теплое время года (при 30°C и выше) и наличии больших количеств органических веществ в воде. Как правило, заболевает крупная рыба (450 г и более), сразу поражается около 5% рыб, но в течение вспышки может погибнуть 50% популяции.

У сомов вначале наблюдают кожные кровоизлияния на хвостовом стебле и боках задней части тела диаметром 3–5 мм, а также экзофтальмию, кровоизлияния вокруг рта и глотки, язвы на лобных частях головы и брызгальцах. Затем образуются абсцессы на стебле хвоста и боках тела, которые быстро увеличиваются в размерах, образуя большие полости, заполненные газом и некротизированной тканью. Эти абсцессы выступают как припухлости на теле с депигментированной кожей. При разрезе выходит некротизированная ткань со зловонным запахом, в связи с чем инфекцию называют также "эмфизематозной гнилостной болезнью канального сома".

При вскрытии отмечают гипертрофию почек и селезенки, кровоизлияния и некрозы в печени, кровянистую асцитную жидкость в брюшной полости, кровоизлияния в жировую ткань, под брюшиной, в кишечнике и мышцах спины. У мелких рыб такая патологоанатомическая картина сходна с герпесвирусной болезнью.

Больная рыба движется по кругу или по спирали, а при наступлении паралича задней части тела стоит у поверхности воды хвостом вниз.

Возбудителем болезни является бактерия *Edwardsiella ictaluri* – грамотрицательная, слабо подвижная палочка размером 2,5 × 0,75 мкм с перитрихейальными жгутиками. Она является цитохромоксидазо–отрицательной, не образует пигмента, ферментирует глюкозу, фруктозу, галактозу, маннозу и мальтозу с образованием кислоты и газа, реакция Фогес–Проскауэра отрицательная, а с метил–рот положительная, продуцирует индол и сероводород, не разжижает желатин. При изучении 13 штаммов установлено родство более чем на 80%, количество гуанина+цитозина составляет 53 моль, %.

Иммунопероксидазным методом и иммунофлуоресценцией также установлено серологическое родство между различными штаммами *E. ictaluri* и отсутствие такого родства с *E. tarda*, *Salmonella* sp. и *A. hydrophila* [204].

Оптимум роста – при температуре 26–30°C, но растет медленно, и лишь через 48 ч на твердой среде формируются колонии диаметром 2 мм, круглые, слегка выпуклые, просвечивающиеся, оксидазо–отрицательные. Все известные штаммы *E. ictaluri* чувствительны к тетрациклину, фурацину, ауреомизину, стрептомицину, канамицину, неомицину и устойчивы к сульфаметразину и эритромицину [203].

Заболевание регистрировали только среди канальных сомов (*Ictalurus punctatus*), однако возбудителя иногда выделяли также от синих и белых сомов (*I. furcatus*, *I. catus*). При определении чувствительности сеголеток пяти видов рыб (канальный сом, тилапия, нотемигонус, большеротый окунь и большеголовый карп) рыбам массой 5,8–9,6 г вводили внутривентриально разные количества *E. ictaluri* в объеме 0,1 мл, а затем их содержали при температуре 26 ± 1°C. Наиболее чувствительными были сеголетки канального сома, среди которых была 100%-ная гибель через 10 дней после введения 1,5 × 10³ клеток. Тилапия показала низкую чувствительность к испытуемой бактерии (погибло 17% рыб после введения 1,5 × 10⁸ клеток), тогда как другие виды рыб не заболели.

E. ictaluri - наиболее часто выделяли из внутренних органов зараженных сеголеток канального сома. В течение первых дней количество бактерий в печени этих рыб уменьшалось, а затем резко увеличивалось, и наступала гибель сеголеток [205].

При лабораторной диагностике делают посевы из почек, печени и не вскрывшихся абсцессов. Для экспрессного диагноза предложены иммунофлуоресцентный и иммунопероксидазный методы [204].

Для лечения кишечной септицемии канального сома рекомендован тетрациклин (окситетрациклин) с кормом в количестве 5 г на 90 кг рыбы в день в течение 4-7 дней. Гибель рыб в прудах резко снижается, однако полное выздоровление и заживление поражений являются длительными [203]. На устойчивость рыб к заболеванию влияют условия содержания и качество кормов.

Так, сеголеткам канального сома средней массой 4 г в течение 14 нед. давали корма с определенным количеством витамина С (0, 30, 60 и 150 мг/кг), а затем заражали патогенной культурой бактерии и содержали при двух разных температурах (23 и 33°C). Для нормального роста и предупреждения авитаминоза (лордозов, сколиозов и снижения образования коллагена в костной ткани) было достаточно 30 мг витамина С в 1 кг корма. Однако устойчивость против заражения при температуре 23°C была более выраженной в том случае, если количество витамина С в корме составляло 150 мг/кг [206].

Полагают, что весной, при более низкой температуре воды и недостатке витаминов в организме рыб после зимовки, витамин С следует вносить в корма в большем количестве, чем требуется для роста и развития сома.

7.2. Эдвардсиеллез угрей

При культивировании японских угрей в Японии наряду с другими болезнями стали регистрировать эдвардсиеллез. Это заболевание протекает как септицемия. У больных рыб наблюдают покраснение плавников и поверхности тела. При первичном поражении печени часть брюшка увеличивается, в печени появляются абсцессы, которые увеличиваются, и состоят из большого количества лейкоцитов и некротизированных гепатоцитов. При расплавлении абсцессов наступает гнойный перитонит,

воспаление внутренних органов. Одновременно на поверхности тела развиваются гнойники, которые превращаются в обширные гнилостные язвы. При нефротической форме в гемопозитической ткани почек образуются некротические фокусы, а затем появляются метастазы в других органах и тканях.

Возбудитель болезни — *Edwardsiella tarda* имеет такие же культурально-морфологические свойства, как возбудитель кишечной септицемии канального сома, но резко отличается по антигенной структуре. Его впервые описали в 1962 г. под названием *Paracolobacterium anguillimortiferum*, но впоследствии было определено настоящее наименование [208]. Эта бактерия широко распространена во внешней среде. При полевых обследованиях прудов, в которых выращивали угрей, наличие *E. tarda* было установлено летом в 90% проб воды и 91% проб ила, осенью — в 97 и 100% проб соответственно, зимой — в 48 и 25% проб, весной — в 73 и 75% проб. В теплые периоды года в воде и иле увеличивается также общее количество микроорганизмов. 37 из 159 выделенных штаммов оказались вирулентными для японских угрей при внутримышечном введении. Вирулентные штаммы имели общие О-антигены, однако на основании реакций адсорбции их можно разделить на несколько серотипов. Установлено четыре серотипа *E. tarda* (А, В, С, D). Изоляты из ректального содержимого угрей, из воды и осадков прудов не имели больших различий в составе серотипов (А — 13–17%, В — 22–35%, С — 4–13%, D — 2–4%), однако в почках рыб преобладал серотип А (А — 72%, В — 0%, С — 3%, D — 13%). Этот серотип является наиболее вирулентным для рыб, особенно для угрей [209, 210]. Экспериментально установлено, что мелкая молодь угрей (0,15 г) более чувствительна к заражению, чем более крупная (3,5 г) [211]. У зараженных угрей в разных органах появляется почти в 10 раз больше патогенных бактерий, чем у угрей, инокулированных авирулентной культурой [213], больные угри выделяют большое количество возбудителя (10^5 — 10^6 /мл), и при вспышке заболевания необходимо удалять таких рыб из прудов [212].

Диагноз ставят на основании эпизоотологических особенностей течения эдвардсиеллеза, клинко-анатомических изменений у больных угрей и результатов бактериологического исследования. Разработан метод прямой иммунофлуоресценции для диагностики болезни в полевых условиях [214, 215].

Болезнь чаще поражает японских угрей при их выращивании в солоноватоводных прудах при температуре до 20°C. В связи

с этим рекомендуются: повышение температуры воды до 27°C и выше, опреснение воды в прудах, использование в качестве посадочного материала европейских угрей [216]. Эффективными являются ванны из оксолиновой и налидиксовой кислот (2–10 мг/л), в которых следует выдерживать угрей в течение 9 сут. при смене растворов один раз в 3 дня. С кормом дают оксолиновую кислоту (5–20 мг/кг) или пиромидиновую кислоту (2,5 – 10 мг/кг) один раз в день в течение 3 дней [217]. В опытах *in vitro* установлена высокая чувствительность штаммов *E. tarda* к цефазолину и триметоприму [218]. Вопросы вакцинации угрей против эдвардсиеллеза находятся в начальной стадии исследований [219, 220, 221].

7.3. Эдвардсиеллез у других видов рыб

Ранее эдвардсиеллез был описан у кефали в морской воде. На поверхности тела рыб имелись крупные абсцессы со злоонным содержимым и кровоизлияниями вокруг них [222].

В октябре 1982 г. среди выращиваемой в морской воде молоди камбалы (*Paralichthys olivaceus*) наблюдали заболевание с признаками воспаления брюшка и асцита. От больных рыб выделили *E. tarda*. Изоляты оказались патогенными для камбалы и желтохвоста при внутрибрюшинном и внутримышечном введении [223].

От чавычи из одной из рек Орегона (США) также выделена *E. tarda*, что подтверждено биохимическими и серологическими реакциями. Кроме чавычи она оказалась патогенной также для стальноголового лосося, радужной форели и канального сома. LD₅₀ для чавычи, стальноголового лосося и канального сома при внутрибрюшинном введении и температуре воды 18°C составляла соответственно $4,1 \times 10^6$, $5,6 \times 10^6$ и $4,0 \times 10^5$ бактерий. Если чавычу и радужную форель содержали после заражения при 18°C, LD₅₀ была $6,4 \times 10^7$ и $1,7 \times 10^6$ соответственно. При заражении стальноголовой форели через воду требовалось $2,0 \times 10^8$ бактерий в 1 мл воды, что указывает на низкую инвазивность *E. tarda*. Оптимум роста в агаре с мозго-сердечным экстрактом отмечали при температуре 35°C. Содержание гуанина+цитозина в ДНК, полученной из выделенной от чавычи бактерии, составляло 59 моль % [224].

На ряде ферм в трех префектурах Японии в 1980–1981 гг. наблюдали хроническую гибель тилапии (0,2 – 0,3% в день). Среди больных рыб отмечали два типа изменений: мелкие бе-

лые узелки в селезенке и абсцессы в плавательном пузыре или геморрагические поражения гонад, особенно яичников. При этих типах патологии выделены *P.fluorescens* и *E.tarda*. Эти бактерии оказались патогенными для тилапий при внутримышечном введении, вызывая такие же симптомы, как у естественно больных рыб. Псевдомоноз отмечался в основном зимой и весной, а эдвардиселлез в более теплое время года. При экспериментальном заражении гибель тилапий также зависела от температуры воды: при заражении *P.fluorescens* она была максимальной при 15–20°C, а при заражении *E.tarda* – при 20–30°C [186].

8. Бактериальная почечная болезнь

Бактериальная почечная болезнь (БПБ) является одной из распространенных болезней лососевых на рыбзаводах. Регистрируется в США, Канаде, Великобритании, Франции, Японии, Исландии, Италии, Испании и Югославии. Протекает как хроническая генерализованная инфекция, характеризующаяся наличием серо-белых некротических абсцессов в почках. Возбудитель выделен от 11 видов лососевых и пока не обнаружен у нелососевых рыб [225].

Больные рыбы вялые, у них отмечают пучеглазие, кровоизлияния у оснований плавников, вздутия и подкожные рубцы на боковой поверхности тела. При разрезе вздутый обнаруживают гнойное содержимое. При вскрытии регистрируют брюшную водянку, бледный цвет печени, воспаление брюшины. Обычной находкой являются беловатые узелки в почках; иногда они крупные и сливаются, при этом почки заметно набухают, особенно в переднем отделе. Отмечают также резкое снижение гематокрита и количества белков сыворотки крови.

Эти симптомы не всегда наблюдают у каждой больной рыбы. Часто единственным симптомом болезни являются серовато-белые узелки в почках.

Возбудителем БПБ является *Renibacterium salmoninarum*. Ранее эту бактерию относили к роду *Corynebacterium*, но в последнее время она выделена в новый вид и род [226]. Она представляет собой грамположительную, неспоровую, неподвижную палочку, которая медленно растет на обогащенных питательных средах. При температуре 16°C через 28 дней на твердых средах вырастают мелкие, круглые, выпуклые, мато-

во-белые колонии с ровными краями диаметром около 1 мм. При последующих пересевах такие колонии начинают формироваться в течение недели.

На основании физиологических и биохимических свойств *R. salmoninarum* делят на два фенона (биотипа). Все они имеют оптимум роста при температуре 16°C и слаболожительную реакцию на каталазу, растут в среде с теллуритом калия, чувствительны к ряду антибиотиков, но фенон-2 устойчив к эритромицину. Имеют перекрестные серологические реакции. К фенону-1 относят штаммы, которые не разлагают аргинин и эскулин, не гидролизуют казеин и твин-40, не продуцируют фосфатазу и дают отрицательную реакцию с метил-ротом. Они не растут в средах с 2,5% хлористого натрия, с кристалл-виолетом и малахитовым зеленым, а также при температурах 4 и 22°C. Морфологически они представляют дипло-коккобациллы общим размером 2,0 × 1,8 мкм. Культуры фенона-2 разлагают аргинин и эскулин, гидролизуют казеин и твин-40, продуцируют фосфатазу и растут в средах с 2,5 % хлористого натрия, с кристалл-виолетом и малахитовым зеленым. Они дают положительную реакцию с метил-ротом и растут при температурах 4 и 22°C. Клетки фенона-2 размером 3,0 × 1,0 мкм располагаются отдельными палочками и редко – парами [228, 229].

Таким образом, вид *R. salmoninarum* не является однородным. Штаммы фенона-1 похожи на *Corynebacterium pyogenes*, а штаммы фенона-2 – на представителей рода *Lactobacillus*, однако они вызывают одну болезнь и необходимы дальнейшие исследования таксономии возбудителя [229].

Бактериальная почечная болезнь установлена у атлантического лосося, американской палии, кумжи, радужной форели, чавычи, кижуча и нерки. Возбудитель БПБ выделен от озерной форели (*Salvelinus namaycush*), горбуши, симы и форели Кларка [225]. На рыбзаводах заболеваемость может составлять 10-25% независимо от вида и возраста рыб [236].

При исследовании диких популяций палии, кумжи и радужной форели в одной речной системе Вайоминга (США) клинические признаки болезни наблюдали только у палии разных возрастов, а наличие возбудителя БПБ чаще всего устанавливали у нее же и меньше всего у радужной форели. Последняя является наиболее устойчивой к заражению в естественных условиях [230, 233].

БПБ отмечается у рыб как в пресной, так и морской воде [231]. Влияние акклиматизации к морской воде на патогенез

почечной болезни изучали экспериментально. Молодь форели заражали культурой *R. salmoninarum* (10^9 клеток внутрибрюшинно), а у контрольных рыб заражение имитировали. Половину рыб содержали в пресной воде, а другую половину – в воде, соленость которой изменялась и достигала морской к 31 дню опыта. Гибель зараженной рыбы в морской воде составила 55% (в среднем через 11,6 дней от момента заражения), в пресной воде – 57,2% (через 34 дня). Среди контрольных рыб гибель в морской воде составила 22,2% (через 32 дня), в пресной воде – 0%. Кожная реакция не давала видимой гиперчувствительности замедленного типа. Отмечали угнетение миграции лимфоцитов на 35 и 42-й дни после заражения, наличие агглютининов в сыворотке крови – на 14, 22 и 28-й дни, появление связывающих антиген клеток в селезенке – на 21 и 28-й дни [232]. В опытах на нерке показано, что витамин С (в форме L-аскорбат-2-сульфата), цинк и марганец не имеют сильного влияния на развитие БПБ: гибель зараженной внутрибрюшинно рыбы зависела от введенной дозы возбудителя, а время выживания было обратно пропорционально количеству аскорбата в корме, но только при низком содержании цинка и марганца [234].

Возбудитель БПБ может находиться в больших количествах в кишечнике и рассеиваться в воде. Он находится также внутри икры (до 4×10^9 клеток/мл) и расположен в желтке (у 11,6 – 15,1% икринок). Йод (500 мг/л в виде йодистого повидона) надежно уничтожает бактерию на поверхности икры и совсем не действует на возбудителя внутри икринок. Поэтому для инкубации не целесообразно использовать икру кижуча и других лососевых с мутной целомической жидкостью [235].

Бактериологическая диагностика БПБ сложна в связи с медленным ростом возбудителя и его требовательностью к составу питательных сред. Разработано несколько питательных сред, среди которых рекомендуется следующая: триптоза – 1,0%, мясной экстракт – 0,3%, хлористый натрий – 0,5%, дрожжевой экстракт – 0,05%, цистеин гидрохлорид – 0,1%, кровь человека – 20%, агар – 1,5%. Кровь человека можно заменять фетальной или телячьей сывороткой крупного рогатого скота (10%) [225].

Для селективного выделения возбудителя БПБ лососевых рыб рекомендуется также питательная среда с антибиотиками: триптон-Т (1%), дрожжевой экстракт (0,05%), циклогексимид (0,005%), агар (1%) растворяют в дистиллированной воде,

а затем после охлаждения добавляют 10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота и фильтрованные растворы L-цистеина гидрохлорида (0,1%), D-циклосерина (0,00125%), сульфата полимиксина Б (0,0025%) и оксолиновой кислоты (0,00025%), после чего разливают в чашки Петри. На этой среде через 10 дней при температуре 15°C вырастают колонии лабораторных штаммов *R. salmoninarum* и не растут другие бактерии, кроме *Arthrobacter aurescens* и *Streptococcus faecalis*. *R. salmoninarum* чаще вырастает при посевах из рыб, так как не развивается другая быстро растущая микрофлора [237].

Практически диагноз ставят на основании клинико-анатомических признаков и выявления бактерий в мазках при окраске по Граму. В целях более точной и быстрой диагностики БПБ разработаны непрямой [238, 239] и прямой [240] методы флуоресцирующих антител. Эти методы являются специфичными при определении и идентификации возбудителя болезни в мазках почечной ткани рыб и более чувствительными, чем окраска по Граму. Однако они уступают культуральному методу, который оказался более точным как в лабораторных условиях, так и при исследовании стада кижуча, неблагополучного по БПБ. При исследовании стада нерки, в котором не было БПБ, но рыбы имели агглютинины против *R. salmoninarum*, культуральный метод давал отрицательные результаты [241, 242].

Изучали применение реакции коаггутинации стафилококков, специфически сенсibilизированных антителами против возбудителя БПБ, для диагностики этой болезни у лососевых рыб. Для этого пробу почек от больных рыб гомогенизировали в 4-9 объемах фосфатно-буферного раствора, а затем прогревали в кипящей водяной бане в течение 30 мин. После центрифугирования (20 мин. при 4000 об/мин) одну каплю надосадочной жидкости смешивали на стекле с каплей суспензии стафилококков, сенсibilизированных антителами против возбудителя БПБ, и инкубировали при комнатной температуре. Реакцию учитывали через 30, 60 и 120 мин. При положительной коаггутинации рыбу рекомендуется исследовать микроскопически, чтобы подтвердить полученный результат. Эта реакция оказалась простой, быстрой и довольно надежной для диагностики БПБ в лабораторных и полевых условиях (суспензию почек можно не центрифугировать) и более чувствительной, чем метод иммунодиффузии. При исследовании 758 рыб из 24 ферм, подозреваемых в неблагополучии по БПБ,

инфицированных рыб обнаруживали реакцией коаггутинации чаще, чем при клиническом обследовании и окраске мазков по Граму [243, 244].

У переболевших и иммунизированных рыб образуются антитела. Так, пестрятки атлантического лосося в возрасте до и старше года образуют высокие титры агглютининов после однократного внутрив брюшинного введения убитой культуры БПБ, эмульгированной в полном адьюванте Фрейнда. При инъекции клеток БПБ в солевом растворе или вакцинации гиперосмотическим погружением иммунная реакция отсутствовала или была слабой. При вакцинации пестряток в возрасте до года продолжительность иммунитета (около 69 нед.) была недостаточной, чтобы обеспечить защитный иммунитет до покатного возраста. Иммунизация рыб старше года возбудителем БПБ в полном адьюванте Фрейнда приводила через год к снижению распространения клинического проявления бактериальной почечной болезни в популяции рыб с 22-32% до 0-3%. [245].

Испытали возможность использования контриммуноэлектрофореза для определения преципитирующих антител в сыворотке крови чавычи, но предварительные результаты показали, что козья анти-БПБ-сыворотка дает линии преципитации с растворимыми антигенами и самой культурой *R. salmoninarum*, выделенной из крови рыб, однако с сыворотками иммунизированной чавычи таких линий не появлялось [246].

Ведется работа по разработке и проверке различных вакцин против БПБ. Бактерийные культуры выращивали в течение 5-15 дней в среде, содержащей 10% телячей сыворотки, в ферментере при pH 7,2, температуре 15°C, с перемешиванием (20 об/мин) и подачей воздуха (800 мл/мин.). Возможными заменителями телячей сыворотки были 10% лошадиной сыворотки, 0,15% крахмала и лептоспирозная среда. Культуры инактивировали 0,3% формалина и использовали без адьюванта. В опытах оценивали также 50%-ную концентрированную формолвакцину, pH - лизированную и 50%-ную концентрированную pH -вакцины. Молодь радужной форели массой 10-15 г вакцинировали путем внутрив брюшинной инъекции, 2-минутным погружением или 2-ступенчатой гиперосмотической инфильтрацией. Рыб содержали 4-6 недель в воде при температуре 11°C, а затем заражали гомологичной вирулентной культурой внутрив брюшинно. Лучший результат давала pH -вакцина, введенная однократно. Гиперосмотическая инфильтрация и погружение в вакцину были неэффективными. Характерным бы-

ло, если заражалось 80% и больше контрольных и 10% и меньше вакцинированных рыб. Инфицированная форель погибала с 19 по 40-й день после заражения [247]. Промышленное изготовление вакцин не ведется.

9. Туберкулез рыб

Туберкулез (микобактериоз) распространен обычно среди аквариумных рыб, но также встречается среди других видов рыб. Острое или хроническое течение болезни вызывают кислотоустойчивые, грамположительные, неподвижные, прямые или изогнутые бактерии размером $1,1-3,3 \times 0,3-0,6$ мкм, которые плохо растут на питательных средах.

Различают четыре вида микобактерий, патогенных для рыб [253]:

Mycobacterium marinum – выделяют от тропических рыб, обитающих как в пресной, так и в морской воде;

M. fortuitum – находят обычно у рыб из тропических и умеренных вод;

M. salmoniphilum – встречается у холодноводных лососевых рыб. Свойства этой бактерии сходны со свойствами *M. marinum*;

Mycobacterium sp. (Runyon, 1959) – нефотохромогенная микобактерия, изолированная от тропических пресноводных рыб.

С начала 1970-х годов наименования *M. piscium*, *M. anabanti* и *M. platyrosicilis* не применяются. Первая бактерия весьма вариабельна по форме и размеру (от 1 до 12 мкм), и ее положение определяется с трудом. Две другие микобактерии следует рассматривать как штаммы или разновидности *M. marinum* [253].

Кроме основных возбудителей туберкулеза, от рыб выделяли также *M. aquae*, *M. terrae*, *M. parafortuitum*, *M. smegmalis* и др. [254].

Симптомы туберкулеза довольно разнообразные и зависят от течения болезни и характера патологических изменений. При остром течении и развитии септицемии рыбы погибают без каких-либо признаков болезни. При хроническом течении рыбы долгое время выглядят здоровыми, а затем отказываются от корма, их окраска бледнеет, движения становятся медленными, плавники смятыми, что особенно заметно у некоторых аквариумных рыб. На теле появляются пятна, затем выпадает

чешуя и образуются плоские поверхностные язвы, разрушаются плавниковые перепонки. При образовании узелков в мышцах на соответствующей поверхности кожи образуются диффузные бледные пятна, а при их вскрытии – язвы. Возникает одно- или двухсторонняя экзофтальмия, позади глаз нередко формируются туберкулезные узелки. При поражении роговицы и хрусталика рыба темнеет. Больная рыба погибает от истощения.

На вскрытии отмечают туберкулезные узелки разного размера во всех или некоторых органах и тканях. Туберкулы имеют серовато-белый или желтоватый цвет, располагаются одиночно или группами, образуя гроздья на серозных оболочках. Они состоят из некротизированного центра с казеозной массой и разным количеством кислотоустойчивых бактерий и из оболочки, образуемой эпителиоидными клетками. Характерной особенностью является отсутствие гигантских клеток.

При сильном поражении органы становятся бугристыми, деформированными и отечными, в брюшной полости скапливается асцитная жидкость. В почках, печени, селезенке могут развиваться пузырьки иногда с жидким содержимым. Плавающий пузырь иногда наполнен серозной жидкостью, стенка белеет, а в связи с его поражением рыба с трудом удерживает равновесие и может кувыркаться. При поражении костей скелета наступают искривления тела. В желудочно-кишечном тракте и в области жабр находят туберкулезные микрофокусы.

Микобактериоз описан у многих видов пресноводных и морских декоративных рыб, при этом гибель может колебаться от 5 до 35% и более [255, 256, 257, 258, 259 и др.]. Он регистрируется у лососевых рыб (чавыча, нерка, кижуч, кета, радужная форель), встречался у карпа, карася, линя, камбалы и других рыб. В одном случае у 25 из 170 карпов, доставленных в лабораторию, имелись кожные поражения разной тяжести – от частичной потери чешуи до открытых язв. Изъязвления были главным образом на спине и рыле рыб, которые были истощены. Внутренние органы не имели заметных патологоанатомических изменений. Гистологически установили, что изъязвления сопровождались воспалением и отеком прилежащей подкожной и мышечной ткани. При окраске по Циль-Нильсену в отдельных макрофагах обнаруживали кислотоустойчивые бактерии (в коже, печени, селезенке и почках) [260].

Диагноз основан на микроскопическом определении кислотоустойчивых грамположительных бактерий в узелках различных органов и тканей.

Бактериологическое исследование редко заканчивается выделением микобактерий вследствие их слабого и медленного роста при быстром и обильном развитии другой микрофлоры.

В дифференциальном отношении следует учитывать ихтиоспоридиоз и нокардиоз. Актиномицеты *Nocardia asteroides* и *N. karpachi* при определенных условиях могут вызывать у рыб узелки в разных тканях и органах, при этом инфекция протекает доброкачественно. Эти микроорганизмы представляют грамположительные неподвижные палочки со слабой устойчивостью к кислотам, которые без труда выращиваются на питательных средах и дают воздушные гифы. Нокардиоз отмечали у желтохвостов, американской палии, чавычи, радужной форели и некоторых других рыб [261].

Специфические средства борьбы с туберкулезом рыб не разработаны. Основной профилактики этой болезни являются поддержание аквариумов и бассейнов в чистоте и периодическая их дезинфекция, разреженные посадки рыбы, полноценное кормление, благоприятный гидрохимический режим и т.п. Не допускается использование в корм сырых тушек больных рыб.

В аквариумы с рыбой можно вносить хлорамин (Б или Т) из расчета 10 мг/л; через 24 часа воду меняют. Хорошие результаты дает озонирование воды.

При установлении диагноза на туберкулез рыб следует уничтожить и провести тщательную дезинфекцию, так как лечение больных рыб длительное и не всегда дает положительные результаты. Тем не менее рекомендованы различные средства. При наличии язв можно применять местно тетрациклиновую или пенициллиновую мази. При достаточном размере рыб делают внутримышечные инъекции сульфисоксазола (гантризина) – 0,2 мг/г, доксициклина или миноциклина – по 5 мкг/г рыбы. С кормом возможно применение сульфисоксазола (2 мг/г корма), доксициклина или миноциклина (0,5 мг/г).

В воду добавляют доксициклин или миноциклин (2–3 мг/л), окситетрациклин (15 мг/л) или тетрациклин (30 мг/л), сульфат канамицина (100 мкг/мл) – в течение 5–14 дней, причем такие обработки повторяют через несколько месяцев [253, 255].

10. Псевдотуберкулез

Псевдотуберкулез (пастереллез) зарегистрирован у желтохвостов, кумжи, атлантического лосося, белого окуня (*Roccus americanus*) черных и красных морских лещей (*Acanthopagrus*

schlegeli, *Pagrus major*), милио (*Milio macrocephalus*), и некоторых других рыб. Это – редкое заболевание, спорадические вспышки которого возникают обычно у культивируемых рыб в пресной или морской воде.

Клинические признаки и патологоанатомические изменения сходны с признаками, наблюдаемыми при микобактериозах рыб. У желтохвостов наблюдают кожные кровоизлияния и белые узелки во внутренних органах. Развиваясь при температуре воды 22 – 29°C, эта болезнь приводила к значительным потерям молоди выращиваемых желтохвостов в Японии.

Вспышку паратуберкулеза среди молоди милио наблюдали летом при температуре воды около 27°C. У рыб отсутствовал аппетит, они становились вялыми, их кожные покровы темнели; в течение двух недель погибло 90% выращиваемых в плавучих садках рыб. Среди молоди черных и красных морских лещей, овального спинорога (*Navodon modestus*) заметных клинико-анатомических признаков не наблюдали, однако гибель достигала 40%, и от рыб выделяли патогенные пастереллы [262, 263, 264].

У кумжи и атлантического лосося разного возраста наблюдали мелкие волдыри, а затем поверхностные кожные язвы, бледные жабры с кровоизлияниями, иногда экзофтальмию. При вскрытии обнаруживали петехии в печени и кишечнике, увеличенные почки и селезенку, у отдельных рыб – экссудат в брюшной полости. У двухлеток сома отмечали септическое заболевание и высокую смертность при температуре воды выше 20°C [265].

Возбудителем болезни является *Pasteurella piscicida* – короткая, грамтридательная, неподвижная палочка размером 0,5 × 1,5 мкм. Она окрашивается биполярно, в старых культурах полиморфная. Является оксидазо- и каталазоположительной, пептонизирует молоко, гидролизует крахмал, реакции Фогес-Проскауера и с метил-рот положительные, дегидрирует 2,3-бутандиол, гидролизует и декарбоксилирует аргинин, ферментирует глюкозу, фруктозу, галактозу и маннозу. На питательных средах растет при температуре 20–30°C и требует наличия 0,5 – 3% хлористого натрия [263]. Средняя летальная доза для 10–50-граммовых рыб составляет 0,001–0,01 мг бактерий на особь.

Установлено, что в ответ на введение антигенов *P. piscicida* у рыб наступает клеточный и гуморальный иммунный ответ [266, 267, 268].

Возможна кратковременная профилактика болезни иммуно-

глобулином, приготовленным из кроличьей иммунсыворотки [269], однако надежные вакцины и перспективные химиопрепараты отсутствуют.

Диагностика псевдотуберкулеза базируется на выделении возбудителя из печени, почек, селезенки. Испытан также метод иммунофлуоресценции, который давал результаты, сопоставимые с культуральным методом.

11. Другие бактериозы рыб

Ботулизм. Описано несколько новых случаев этой болезни среди разных видов рыб.

Во время вспышек болезни в прудах с земляным дном на двух рыбзаводах в штатах Вашингтон и Орегон (США) погибло около 1,25 млн. молодых кижуча. Температура воды при этом была выше 14°C. Больные рыбы теряли равновесие, плавали на боку, течением воды сносились к вытоку. Фекальный материал в заднем отделе кишечника был очень вязким и имел желтовато-оранжевый цвет. В кишечнике больных рыб и осадках обнаруживали токсин и бациллы *Clostridium botulinum* типа Е [270].

В другом случае среди радужной форели диагноз на ботулизм поставлен путем определения токсина в сыворотке и кишечном содержимом рыб и подтвержден воспроизведением заболевания у мальков радужной форели токсином из штамма *C. botulinum* типа Е, выделенного из кишечного содержимого больных рыб. Вспышку болезни ликвидировали в течение месяца путем постоянного осмотра и удаления погибшей и больной рыбы, освобождения от воды, очистки и сильного известкования неблагополучных прудов и запрещения вывоза рыбы с фермы [271].

Исследовали 1407 рыб, выловленных в скандинавских водах, Северном море и Северной Атлантике. Распространение *C. botulinum* в кишечниках было наибольшим у рыб из скандинавских прибрежных вод и Балтийского моря (4-43%), меньше у рыб из Северного моря (до 8%) и практически отсутствовало у рыб из Северной Атлантики. Контаминирование кишечника клостридией было чаще у демерсальных (треска, камбала), чем у пелагических (сельдь) рыб. У сельди были обсеменены главным образом внешние покровы и жабры. Во всех случаях определяли только тип Е. У диких пресноводных рыб из трех озер (исследовали 71 экземпляр плотвы, леща, окуня и угря) *C. botulinum* не выделили [272].

Возбудитель ботулизма выделен также от прудовых карпов [273]. Его высокая термоустойчивость и длительное переживание в иле представляют большую опасность для рыб и в эпидемиологическом плане. Для очистки прудов от этих бацилл предложен коммерческий препарат АВА (Aqua—Vasta—Aid), принцип действия которого основан на разрушении органических веществ бактериями, входящими в состав препарата, однако результаты практического применения АВА оцениваются по-разному [274, 275].

На одном из рыбзаводов Ньюфаундленда (Канада) исследовали гибель 2–3-летних самок радужной форели. Установили, что у рыб протекала смешанная бактериальная инфекция. Основное значение имела *Lactobacillus* sp. и меньшее — *A. hydrophila*, *P. fluorescens* и энтеробактерии. Бактерии выделялись из внутренних органов и асцитной жидкости. У больных рыб отмечали дегенеративные и некротические изменения в печени, селезенке и почках, а также слушивание эпителия кишечника. Не выяснено, какова роль стресса в связи с отцеживанием икры и ее задержкой в брюшной полости. В невыдавленной икре обнаружено значительное количество *Lactobacillus* sp. [276].

В 1981 г. в аквариуме Мацусимы (Япония) погибло 25 из 29 экз. рыбы-луны (*Mola mola*). Почти у всех рыб были одинаковые патологоанатомические изменения (геморрагическая экзантема кожи, множественные липоидные узелки в почках). Бактериологически исследовали трех рыб. Из различных органов выделили *Citrobacter freundii*, в том числе из узелков почек и селезенки — в чистой культуре. При исследовании морской воды, циркулирующей в аквариуме, наряду с *C. freundii* выделены другие энтеробактерии (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*). При дезинфекции аквариумов хлором заболевание прекратилось. Считают, что инфекцию у рыбы-луны вызвала бактерия *C. freundii*, которая появилась в результате загрязнения морской воды в заливе бытовыми стоками [277].

Стрептококкоз со значительной гибелью радужной форели регистрировали на одной из рыбоводных ферм ЮАР. В острых случаях у больных рыб отмечали экзофтальмию и кровоизлияния в области глаз, а также под брюшиной и прилежащих мышцах. При подостром течении рыба сильно темнела, ее глаза были резко воспалены, имелись большие кровоизлияния в камерах глаз, что приводило к смещению хрусталика; кровоизлияния во внутренних органах отсутствовали. При хроническом течении глаза у некоторых рыб отсутствовали, а глазные

впадины заполнены соединительной тканью и покрыты пигментированной кожей. При поражении обоих глаз тело рыбы становилось черным. У больных рыб снижались показатели крови, особенно количества эритроцитов и гемоглобина. Возбудителем являлся фекальный стрептококк группы Д по Лансфилду. Он оказался патогенным для радужной форели, но не вызывал заболевания у мозамбикского и полосатого лещей, карпа и большеротого окуня [278, 279].

В одном из альпийских озер (Франция) наблюдали эпизоотическую вспышку болезни среди окуней массой до 1,5 кг, у которых были кровоизлияния и язвы на поверхности брюшка. Выделена неподвижная грамотрицательная бактерия, которая была патогенной для окуней и не вызывала гибели радужной форели и карпа при экспериментальном заражении. Она осталась неидентифицированной, однако полагают, что обнаружен новый патоген окуня. При этой вспышке от рыб выделяли одновременно авирулентные аэромонады [280].

ЛИТЕРАТУРА

1. Bowers A., Alexander J.B. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 2, p. 145–151.
2. Ferguson H.W., Claxton M.J., Moccia R.D., Wilkie E.J. — Vet. Pathol., 1982, 19, № 6, p. 687–699.
3. Лубянскене В.Н., Янкявичус К.К., Тряпшене О.П., Заблещис Ю.И. — Тр. АН ЛитССР. Сер. В, 1982, 1 (77), с. 77–80.
4. Ugajin M. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1979, 45, № 6, p. 721–731.
5. Ruby E.G., Morin J.G. — Appl. and Environ. Microbiol., 1987, 38, № 3, p. 406–411.
6. Lesel R., Pointel J.-G. — Ann. zool. Ecol. anim., 1979, 11, № 3, p. 327–335.
7. Lesel R., Peringer P. — Arch. Hydrobiol., 1981, 93, № 1, p. 109–120.
8. Коган В.А., Лапенков М.И. — Ветеринария, 1981, № 6, с. 70–71.
9. Лобунцов К.А., Юхименко Л.Н. — Всес. совещ. "Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб" (IV Всес. симпозиум по инф. бол. рыб) 12–16.10.1981 г. М., 1981, с. 36–38.
10. Мусселиус В.А. — В кн.: Лабораторный практикум по болезням рыб. М.: Легк. и пищ. пром-сть, 1983, с. 107–109.
11. Schulz D., Bulling E. — Zbl. Veterinärmed., 1981, B28, № 6, S. 450–482.

12. Riddle L.M., Graham T.E., Amborski R.L., Hugh-Jones M.—Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 125–133.
13. Hsu T.S., Waltman W.D., Shotts E.B. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 101–111.
14. Stevenson R.M.W., Allan B.J. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 173–180.
15. Hayashi F., Kunimine I., Harada K., Inoue M. et al.—Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1981, 47, № 12, p. 1541–1544.
16. Lallier R., Mittal K.R., Leblanc D., Lalonde G. et al.—Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 119–123.
17. Walters G.R., Plumb J.A. — J. Fish Biol., 1980, 17, № 2, p. 177–185.
18. Snarski V.M. — Environ. Pollut., 1982, A28, № 3, p. 219–232.
19. Plumb J.A. — Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult. Budapest, 1984, p. 189–199.
20. Fijan N., Petrinec Z., Sulimanovic D., Zwillenberg L.O.—Vet. arh., 1971, 41, № 5–6, p. 125–138.
21. Bootsma R., Blommaert J. — Fisch und Umwelt, 1978, № 5, S. 20–27.
22. Csaba G., Körmedy B., Békési L. — Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult. Budapest, 1984, p. 63–74.
23. Tuffery G., Dehand G. — Bull. franç. piscicult., 1979, 52, № 275, p. 83–88.
24. Dubois-Darnaudeys A., Tuffery G. — Bull. Acad. vét. France, 1979, 52, № 4, p. 561–566.
25. Trust T.J., Khouri A.G., Austen R.A., Ashburner L.D.—FEMS—Microbiol., 1980, 9, № 1, p. 39–42.
26. Bootsma R., Fijan N., Blommaert J. — Vet. arh., 1977, 47, № 6, p. 291–297.
27. Wiedemann H. — Dtsch. tierarztl. Wschr., 1979, 86, № 5, S. 176–181.
28. Elliott D.G., Shotts E.B. — J. Fish Diseases, 1980, 3, № 2, p. 133–143.
29. Shotts E.B., Talkingston F.D., Elliott D.G., McCarthy D.H.—Ibid., № 3, p. 181–186.
30. Elliott D.G., Shotts E.B.—Ibid., № 2, p. 145–151.
31. Hubbert R.M., Williams W.P. — Bamidgen, 1980, 32, № 2, p. 46–52.

32. Goerlich R., Greuel E. — *Kraftfutter*, 1982, 65, № 2, S. 62–64.
33. Antychowicz J., Zelazny J. — *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 1982, 25, № 1–4, p. 14–20.
34. Razavilar V., Tabatabayi A.H., Azari-Takami G. — *J. Vet. Fac. Univ. Tehran*, 1981, 37, № 2, p. 21–38.
35. Razavilar V., Gharagozlou M.J., Tabatabayi A.H., Djalali B. — *Ibid.*, № 3, p. 11–22.
36. Huizinga H.W., Esch G.W., Hazen T.C. — *J. Fish Diseases*, 1979, 2, p. 263–277.
37. Jaitly P.N., Jia B.C., Singh N.K. — *Science and Culture*, 1980, 46, № 3, p. 101–103.
38. Hazen T.C., Raker B.C., Esch G.W., Kuhn R.E. — *Abstracts 79th Annu. Meet. Amer. Soc. Microbiol.*, Los Angeles, Calif., 1979. Washington, D.C., 1979, p. 179.
39. Hazen T.C., Raker M.L., Esch G.W., Fliermans C.B. — *J. Protozool.*, 1978, 25, № 3, Part 2, p. 351–355.
40. Jo Y., Ohnishi K. — *Fish Pathol.*, 1980, 15, № 2, p. 85–89.
41. Hillard R.W., Pass D.A., Potter I.C. — *Acta zool.*, 1979, 60, № 2, p. 115–121.
42. Colesante P.T., Engstrom-Heg R., Ehlinger N., Youmans N. — *Progr. Fish-Cult.*, 1981, 43, № 1, p. 17–20.
43. Velitzelos B., Donos A., Papaharissis G., Manus I. et al. — *Piscicult. franç.*, 1980, № 61–62, p. 29–30.
44. Wakabayashi H., Kanai K., Hsu Ta-Chuan, Egusa S. — *Fish Pathol.*, 1981, 15, № 3–4, p. 319–325.
45. Афанасьев В.И. — *Источники возбудителя аэромоноза рыб.* — *Тр. ВНИИ эксперим. вет.*, 1984, 60, с. 109–113.
46. Розум Ю.Г. — *Всес. совещ. "Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб"* (IV Всес. симпозиум по инф. бол. рыб) 12–16.10.1981 г. М., 1981, с. 60–61.
47. Микитюк П., Рягин С. — *Науч. тр. Укр. с.-х. акад. Киев*, 1979, 216, с. 188–191.
48. Mitchell A.J., Plumb J.A. — *J. Fish Diseases*, 1980, 3, № 2, с. 93–99.
49. Иванова Г.М., Швец Н.М., Жук Н.С. — *Биол. основы рыб. х-ва водоемов Сред. Азии и Казахстана. Материалы 14 науч. конф.*, Ташкент, 27–29 сент., 1983, с. 325.
50. Wu Jen-Leih, Lin Hui-Ming, Jan Lu, Hsu Ya-Li. et al. — *Fish Pathol.*, 1981, 15, № 3–4, p. 271–276.
51. Hlond S., Stefan J. — *Gosp. rybna*, 1983, 33, № 2, p. 7–8.
52. Томасян Х., Караниколов Й. — *Рибно стопанство*, 1983, 29, № 6, с. 19–20.

53. Афанасьев В.И., Сулейманиян В.С., Музыченко Г.Ф., Бадовская Л.А.—А.с. 914010, СССР. Заявл. 01.06.76, № 2367702/28—13, опубл. 23.03.82 в Б.И., 1982, № 11, МКИ А 01 К 61/00.
54. Факторович К.А., Дьякова Г.И., Бойцова И.Л.—Вопр. ихтиологии, 1982, 22, № 4, с. 671—676.
55. Davis J.F., Hayasaka S.S. — J. Fish Diseases, 1984, 7, № 4, p. 311—316.
56. Takahashi Y.—J. Shimonoseki Univ. Fish., 1984, 32, № 1—2, p. 41—48.
57. Takahashi Y. — Ibid., № 3, p. 67—74.
58. Коган В.А.—Всес. совещ. "Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб" (IV Всес. симпозиум по инф. бол. рыб) 12—16.10.1981 г. М., 1981, с. 29—31.
59. Юхименко Л.Н., Викторова В.Ф. VII Всес. совещ. по паразитам и болезням рыб. Тезисы докладов. Л., 1979, с. 122—123.
60. Юхименко Л.Н.—Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ. Сер. Рыбохоз. использов. внутр. водоемов. 1980, № 10, с. 10—14.
61. Munro A.L.S.—Proc. Royal Soc. Edinburgh, 1982, B81, № 3, p. 177—184.
62. Nomura T., Kimura T. — Fish Pathol., 1981, 16, № 2, p. 69—74.
63. Hahnel G.B., Gould R.W. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 4, p. 329—337.
64. Hayasaka S.B., Sullivan J.—J. Fish Biol., 1981, 18, № 6, p. 655—659.
65. Wiedemann H. — Beitr. Fischpathol. und -toxicol., Stuttgart—New York, 1980, p. 59—67.
66. Evenberg D., Van Bortel R., Lugtenberg B., Schurer F. et al. — Biochim. et biophys. acta, 1982, 648, № 2, p. 241—248.
67. Evenberg D., Lugtenberg B. — Ibid., 684, № 2, p. 249—254.
68. Hahnel G.B., Gould R.W., Boatman E.S. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 1, p. 1—11.
69. Ishiguro E.E., Trust T.J. — Fish Biol. : Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel. e.a., 1981, p. 163—168.
70. Wiedmann H.—Berlin. und muenchen. tierärztl. Wochenschr., 1981, 94, № 8, S. 153—155.
71. Michel C. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1980, 37, № 4, p. 746—750.
72. McCarthy D.H.—J. Fish Diseases, 1983, 6, № 3, p. 231—237.
73. Cipriano R.C. — Progr. Fish—Cult., 1982, 44, № 1, p. 12—14.
74. Morikawa S., Tashiro F. — Fish Pathol., 1982, 16, № 4, p. 181—185.

75. Groberg W.J., McCoy R.H., Pilcher K.S., Fryer J.L. — J. Fish. Res. Board Can., 1978, 35, № 1, p. 1–7.
76. Sakai D.K. — Sci. Repts Hokkaido Fish. Hatchery, 1979, № 34, p. 1–6.
77. Bullock A.M., Roberts R.J. — J. Fish Diseases, 1980, 3, № 6, p. 517–524.
78. McCarthy D.H., Amend D.F., Johnson K.A., Bloom J.V. — Ibid., 1983, 6, № 2, p. 155–174.
79. Cipriano R.C., Griffin B.B., Lidgerding B.C. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1981, 38, № 11, p. 1322–1326.
80. Cipriano R.C. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1982, 39, № 11, p. 1512–1518.
81. Austin B., Rodgers C.J. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown; W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 387–393.
82. Johnson K.A., Amend D.F. — J. Fish Diseases, 1984, 7, № 2, p. 101–105.
83. Cipriano R.C., Starliper C.E. — Progr. Fish-Cult., 1982, 44, № 4, p. 167–169.
84. Paterson W.D. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines, Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 375–385.
85. Michel C., Gerard J.-P., Fourbet B., Collas R. — Piscicult. franç., 1980, № 60, p. 7–10.
86. Truquet M., Michel G. — Bull. franç. piscicult., 1983–1984, 56, № 291, p. 191–196.
87. Austin B., Rayment J., Alderman D.J. — Aquaculture, 1983, 31, № 2–4, p. 101–108.
88. Michel C. — Ann. rech. vet., 1979, 10, № 1, p. 33–40.
89. Weber J.M., Zwicker B.M. — J. Fish. Res. Board Can., 1979, 36, № 9, p. 1102–1107.
90. Cipriano R. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1982, 39, № 1, p. 218–221.
91. Bullock G.L., Maestrone G., Starliper C., Schill B. — Progr. Fish-Cult., 1983, 45, № 1, p. 51–53.
92. Tatner M.F., Johnson C.M., Horne M.T. — J. Fish Biol., 1984, 25, № 1, p. 95–108.
93. Petrinec Z., Naglic T., Matasin Z., Fijan N. — Ribar. Jugosl., 1983, 38, № 3, p. 58.
94. Csaba G., Prigli M., Kovács-Gayer E., Békési L. et al. — Fish. Pathog. and Environ. Eur. Polycult., Budapest, 1984, p. 75–84.
95. Мочалкин В.П. — Бюлл. Всес. ин-та эксперим. вет., 1981, 41, с. 13–14.
96. Мочалкин В.П. — Всес. совещ. "Организация мероприятия

- по борьбе с инфекционными болезнями рыб" (IV Всес. сим-позиум по инф. бол. рыб) 12-16.10.1981 г. М., 1981, с. 49-50.
97. Мочалкин В.П. — Бюлл. Всес. ин-та эксперим. вет., 1982, 48, с. 34-35.
 98. Nakai. T., Muroga K. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1979, 45, № 7, p. 817-821.
 99. Nakai T., Muroga K. — Fish Pathol., 1982, 17, № 2, p. 147-156.
 100. Stewart D.J., Woldemariam K., Dear G., Mochaba F.M. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 1, p. 75-76.
 101. Ellis A.E., Dear G., Stewart D.J. — Ibid., p. 77-79.
 102. Flüchter J. — Aquaculture, 1979, 16, № 3, p. 271-274.
 103. Giorgetti G., Ceschia G. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 2, p. 125-130.
 104. Giorgetti G., Tomasin A.B., Ceschia G. — Fish Biol.; Sero-diagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 455-459.
 105. Schiewe M.H. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 149-158.
 106. Schiewe M.H., Trust T.J., Crosa J.H. — Curr. Microbiol., 1981, 6, № 6, p. 343-348.
 107. Ransom D.P., Lannan C.N., Rohovec J.S., Fryer J.L. — J. Fish Diseases, 1984, 7, № 2, p. 107-115.
 108. Tison D.L., Nishibuchi M., Greenwood J.D., Seidler R.J. — Appl. and Environ. Microbiol., 1982, 44, № 3, p. 640-646.
 109. Kitao T., Aoki T., Fukudome M., Kawano K. et al. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 2, p. 175-181.
 110. Larsen J.L. — Acta vet scand., 1983, 24, № 4, p. 456-476.
 111. Crosa J.H. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 181-188.
 112. Tabata K., Karata S., Ruiz M.S. — Fish Pathol., 1982, 17, № 3, p. 205-212.
 113. Мун А.И., Шукина И.Н. — Ветеринария, 1979, № 11, с. 40-43.
 114. Egidius E., Andersen K., Clausen E., Raa J. — J. Fish Diseases, 1981, 4, № 4, p. 353-354.
 115. Jo Y., Ohnishi K., Muroga K. — Fish Pathol., 1979, 14, № 1, p. 43-47.
 116. Muroga K., Tatani M. — Ibid., 1982, 16, № 4, p. 211-214.
 117. Egidius E., Braaten B., Andersen K., Lohne Gokstad S. — Rapp. et proc. verb. réun. Cons. int. explor. mer, 1983, 182, p. 103-105.
 118. Jensen N.J. — Ibid., p. 58-64.
 119. Poppe T.T., Hastein T., Salte R. — Nor. veterinærtidsskr., 1983, 95, № 5, p. 315-323.

120. Aoki T., Kitao T., Kawano K. — *J. Fish Diseases*, 1981, 4, № 3, p. 223–230.
121. Mifuchi I., Takase Y., Yanagihara Y., Shimizu T. — *Fish Pathol.*, 1983, 18, № 1, p. 27–30.
122. Austin B., Morgan D.A., Alderman D.J. — *Aquaculture*, 1981, 26, № 1–2, p. 1–12.
123. Austin B., Johnson C., Alderman D.J. — *Ibid.*, 1982, 29, № 3–4, p. 227–239.
124. Fujihara Y., Kano T., Fukui H. — *Fish Pathol.*, 1984, 19, № 1, p. 35–44.
125. Мун А.И., Луллу А.В. — *Ветеринария*, 1983, № 7, с. 43–44.
126. Agius C., Horne M.T., Ward P.D. — *J. Fish Diseases*, 1983, 6, № 2, p. 129–134.
127. Johnson K.A., Amend D.F. — *Ibid.*, № 5, p. 473–476.
128. Rosenkvist-Jensen L. — *Rapp. et proc. — verb. réun. Cons. int. explor. mer*, 1983, 182, p. 121–125.
129. Honda A. — *Jap. J. Vet. Res.*, 1984, 32, № 2, p. 94.
130. Tatner M.F., Horne M.T. — *J. Fish Biol.*, 1983, 22, № 5, p. 585–591.
131. Kawano K., Aoki T., Kitao T. — *Fish Pathol.*, 1984, 18, № 4, p. 185–190.
132. Глаголева Т.П., Спешиллов Л.И., Висманис К.О. — *Рыбохоз. исслед. в бассейне Балтийск. моря (Рига)*, 1982, № 17, с. 70–75.
133. Takeij S., Susumu I., Shigeru M., Akiru G. — *Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va.*, 1981. Basel с.а.: 1981, p. 461.
134. Kusuda R., Kawai K., Itami T. — *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1980, 46, № 8, p. 1053.
135. Aoki T., Kitao T., Fukudoma M., Takahashi S. et al. — *Bull. Fac. Agr. Miyazaki Univ.*, 1982, 29, № 1, p. 77–85.
136. Kawano K., Aoki T., Kitao T. — *Fish Pathol.*, 1983, 18, № 3, p. 143–149.
137. Austin B. — *Vet. Rec.*, 1983, 113, № 17, p. 394–395.
138. Garrison R.L., Gould R.W., O'Leary P.J., Fryer J.L. Пат. № 4223014, США, заявл. 8.05.1978, № 903430, опубл. 16.09.1980. МКИ А 61 К 39/02, НКИ 424–92.
139. Itami T., Kusuda R. — *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1980, 46, № 5, p. 533–536.
140. Campbell A.C., Buswell J.A. — *J. Fish Diseases*, 1982, 5, № 6, p. 495–508.
141. McVicar A.H., White P.G. — *Aquaculture*, 1982, 26, № 3–4, p. 213–222.

142. Sugimoto N., Kashiwagi S., Matsuda T. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1981, 47, № 6, p. 719–725.
143. Sugimoto N., Kashiwagi S., Matsuda T. — Ibid., № 9, p. 1141–1148.
144. Marks J.E., Lewis D.H., Trevino G.S. — J. Amer. Vet. Med. Assoc., 1980, 177, № 9, p. 811–814.
145. Hikida M., Wakabayashi H., Egusa S., Masumura K. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1979, 45, № 4, p. 421–428.
146. Bootsma R., Clerx J.P.M. — Aquaculture, 1976, 7, № 4, p. 371–384.
147. Farkas J., Olah J. — Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult. 1984, p. 55–61.
148. Schneider R., Nicholson B.L. — Abstrs 79th Annu. Meet. Amer. Soc. Microbiol., Los Angeles, Calif., 1979. Washington, D.C., 1979, p. 194.
149. Schneider R., Nicholson B.L. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1980, 37, № 10, p. 1505–1513.
150. Wakabayashi H., Egusa S., Fryer J.L. — Ibid., p. 1499–1504.
151. Morrison C., Cornick J., Shum G., Zwicker B. — J. Fish Diseases, 1981, 4, № 3, p. 243–258.
152. Просьяная В.В., Наконечная М.Г., Висманис К.О., Глаголева Т.П. — Всес. совещ. Соверш. биотехн. прудов. рыбовод. 1980, Тез. докл., М., 1980, с. 205–207.
153. Просьяная В.В., Наконечная М.Г., Головня Л.В. — В кн.: Освоение теплых вод энергетических объектов для интенсивного рыбоводства. Киев, 1978, с. 263–265.
154. Висманис К.О., Просьяная В.В., Глаголева Т.П., Наконечная М.Г. — Рыбохоз. исслед. в бассейне Балтийск. моря (Рига), 1982, № 17, с. 76–81.
155. Потиевский Э.Г., Царева Л.А., Бурлин В.В. — Симпозиум по паразитологии и патологии морских организмов, Ленинград, 1981. Тез. докл. сов. участников. Л., 1981, с. 81–82.
156. Wakabayashi H. — Fish Pathol., 1980, 14, № 4, p. 185–189.
157. Kimura H., Kusuda R. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1983, 49, № 10, p. 1553–1559.
158. Kuo Shing-Ching, Chung Huu-Yun, Kou Guang-Hsiung. — Fish Pathol., 1981, 15, № 3–4, p. 309–314.
159. Hashimoto H. — Ibid., 1982, 17, № 1, p. 1–10.
160. Kusuda R., Kawa K. — Ibid., p. 11–16.
161. Ikeda Y., Minami T. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1982, 48, № 10, p. 1383–1388.
162. Taniguchi M. — Ibid., № 12, p. 1717–1720.
163. Kitao T. — Fish Pathol., 1982, 17, № 1, p. 17–26.

164. Kusuda R., Kawai K., Shirakawa T. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1982, 48, № 12, p. 1731–1738.
165. Minami T. — Fish Pathol., 1979, 14, № 1, p. 15–19.
166. Yasunaga N. — Ibid., 1982, 17, № 3, p. 195–198.
167. Taniguchi M. — Ibid., № 1, p. 55–59.
168. Taniguchi M. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1982, 48, № 12, p. 1721–1723.
169. Aoki T., Takeshita S., Kitao T. — Ibid., 1983, 49, № 11, p. 1673–1677.
170. Iida T., Wakabayashi H., Egusa S. — Fish Pathol., 1982, 16, № 4, p. 201–206.
171. Taniguchi M. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1983, 49, № 8, p. 1171–1174.
172. Kimura H., Kusuda R. — J. Fish Diseases, 1979, 2, № 6, p. 501–510.
173. Kimura H., Kusuda R. — Ibid., 1982, 5, № 6, p. 471–478.
174. Shiomitsu K. — Fish Pathol., 1982, 17, № 1, p. 27–31.
175. Ohnishi K., Jo Y. — Ibid., 1981, 16, № 2, p. 63–67.
176. Sugiyama A., Kusuda R., Kawai K., Inada Y. et al. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1981, 47, № 8, p. 1003–1007.
177. Rasheed V., Plumb J.A. — Aquaculture, 1984, 37, № 2, p. 97–105.
178. Nakatsugawa T. — Fish Pathol., 1983, 17, № 4, p. 281–285.
179. Kitao T., Aoki T., Sakoh R. — Ibid., 1981, 15, № 3–4, p. 301–307.
180. Kusuda R., Komatsu I., Kawai K. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1978, 44, № 3, p. 295.
181. Kusuda R., Sugiyama A., Kawai K. — Ibid., 1981, 47, № 10, p. 1309–1315.
182. Taniguchi M. — Ibid., 1983, 49, № 3, p. 363–366.
183. Fuhrmann H., Böhm K.H., Schlotfeldt H.-J. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 3, p. 309–311.
184. Roberts M.S. — Ibid., № 6, p. 551–552.
185. Lesel R., Lesel M., Gavinin F., Vullame A. — Bull. franc. piscicult., 1983, 55, № 288, p. 73–74.
186. Miyashita T. — Fish Pathol., 1984, 19, № 1, p. 45–50.
187. Llewellyn L.C. — J. Fish Diseases, 1980, 3, № 1, p. 29–39.
188. Busch R.A. — Mar. Fish. Rev., 1978, 40, № 3, p. 42–51.
189. Hunter V.A., Knittel M.D., Fryer J.L. — J. Fish Diseases, 1980, 3, № 6, p. 467–472.
190. Knittel M.D. — Ibid., 1981, 4, № 1, p. 33–40.
191. Bullock G.L., Maestrone G., Starliker C., Schill B. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1983, 40, № 1, p. 101–102.

192. Bosse M.P., Post G. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 1, p. 27–32.
193. McCarthy D.H., Johnson K.A. — Ibid., 1982, 5, № 4, p. 323–328.
194. Amend D.F. Пат. № 4287179, США, заявл. 10.01.1980, № 111142, опубли. 1.09.1981. МКИ А 61 К 39/02, НКИ 424/92.
195. Tebbit G.L., Erickson J.D., Vande Water R.B. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 395–401.
196. Johnson K.A., Amend D.F. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 4, p. 331–336.
197. Newman S.G., Majnarich J.J. — Ibid., 1982, 5, № 4, p. 339–341.
198. Johnson K.A., Flynn J.K., Amend D.F. — Ibid., № 3, p. 207–213.
199. Lewis D.H. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1981, 38, № 4, p. 463–466.
200. Austin B., Green M., Rodgers C.J. — Aquaculture, 1982, 27, № 1, p. 73–78.
201. Rodgers C.J., Austin B. — Vet. Rec., 1983, 112, p. 83.
202. Hawke J.P., McWhorter A.C., Steigerwalt A.G., Brenner D.J. — Int. J. Syst. Bacteriol., 1981, 31, № 4, p. 396–400.
203. Hawke J.P. — J. Fish. Res. Board Can., 1979, 36, № 12, p. 1508–1512.
204. Rogers W.A. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 169–172.
205. Plumb J.A., Sanchez D.J. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 3, p. 261–266.
206. Durve V.S., Lovell R.T. — Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1982, 39, № 7, p. 948–951.
208. Sakazaki R., Tamura K. — Int. J. Syst. Bacteriol., 1975, 25, № 2, p. 219–220.
209. Minagawa T., Nakai T., Muroga K. — Fish Pathol., 1983, 17, № 4, p. 243–250.
210. Park Soo-Il, Wakabayashi H., Watanabe Y. — Ibid., 18, № 2, p. 85–89.
211. Ishihara S., Kusuda R. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1981, 47, № 8, p. 999–1002.
212. Ishihara S., Kusuda R. — Ibid., 1983, 49, № 9, p. 1341–1345.
213. Kusuda R., Ishihara S. — Ibid., 1981, 47, № 4, p. 475–479.
214. Horiuchi M., Sato T., Takagi H., Tozuka K. — Fish Pathol., 1980, 15, № 1, p. 49–55.
215. Horiuchi M., Sato T., Takagi H., Tozuka K. — Ibid., № 2, p. 63–67.
216. Muroga K. — Ibid., 1978, 13, № 1, p. 35–39.
217. Jo Y. — Ibid., p. 41–42.

218. Aoki T., Kitao T. - Ibid., 1981, 15, № 3-4, p. 277-281.
219. Song Y.L., Kou G.H. - Ibid., p. 249-255.
220. Nakai T., Muroga K. - Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1979, 45, № 7, p. 817-821.
221. Salati F., Kawai K., Kusuda R. - Fish Pathol., 1983, 18, № 3, p. 135-141.
222. Kusuda R., Toyoshima T., Iwamura Y., Sako H. - Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1976, 42, № 3, p. 271-276.
223. Nakatsugawa T. - Fish Pathol., 1983, 18, № 2, p. 99-101.
224. Amandi A., Hiu S.F., Rohovec J.S., Fryer J.L. - Appl. and Environ. Microbiol., 1982, 43, № 6, p. 1380-1384.
225. Fryer J.L., Sanders J.E. - Annu. Rev. Microbiol. Vol. 35. Palo Alto, Calif., 1981, p. 273-298.
226. Sanders J.E., Fryer J.L. - Int. J. Syst. Bacteriol., 1980, 30, p. 496-502.
227. Wakabayashi H., Egusa S. - Fish Pathol., 1979, 13, № 4, p. 201-203.
228. Austin B. - Fish Diseases Third COPRAQ-Session, Berlin e.a., Springer-Verlag, 1980, p. 147-153.
229. Austin B., Rodgers C.J. - Curr. Microbiol., 1980, 3, № 4, p. 231-235.
230. Mitchum D.L., Sherman L.E., Baxter G.T. - J. Fish Res. Board Can., 1979, 36, № 11, p. 1370-1376.
231. Paterson W.D., Lall S.P., Desautels D. - Fish Pathol., 1981, 15, № 3-4, p. 283-292.
232. Carlisle J.C., Spitsbergen J. - Biol. Bull., 1980, 159, № 2, p. 495-496.
233. Mitchum D.L., Sherman L.E. - Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1981, 38, № 5, p. 547-551.
234. Bell G.R., Higgs D.A., Traxler G.S. - Aquaculture, 1984, 36, № 4, p. 293-311.
235. Evelyn T.P.T., Ketcheson J.E., Prosperi-Porta L. - J. Fish Diseases, 1984, 7, № 3, p. 173-182.
236. Lallier R., Olivier G., Chartier P., Turcotte C. et al. - Can. Vet. J., 1981, 22, № 7, p. 227-229.
237. Austin B., Embley T.M., Goodfellow M. - FEMS Microbiol. Letters, 1983, 17, № 1-3, p. 111-114.
238. Paterson W.D., Gallant C., Desautels D. - J. Fish. Res. Board Can., 1979, 36, № 12, p. 1464-1468.
239. Laidler L.A. - J. Fish Diseases, 1980, 3, № 1, p. 67-69.
240. Bullock G.L., Griffin B.R., Stuckey H.M. - Can. J. Fish. and Aquat. Sci., 1980, 37, № 4, p. 719-721.
241. Evelyn T.P.T. - Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 193.

242. Evelyn T.P.T., Ketcheson J.E., Prosperi-Porta L. — *Fish Pathol.*, 1981, 15, № 3-4, p. 293-300.
243. Kimura T., Yoshimizu M. — *Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981*, p. 135-148.
244. Kimura T., Yoshimizu M. — *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1981, 47, № 9, p. 1173-1183.
245. Paterson W.D., Desautels D., Weber J.M. — *J. Fish Diseases*, 1981, 4, № 2, p. 99-111.
246. Groman D.B. — *Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981*, p. 189-192.
247. McCarthy D.H., Croy T.R., Amend D.F. — *J. Fish Diseases*, 1984, 7, № 1, p. 65-71.
248. Obradovic J. — *Ribar. Judosl.*, 1983, 38, № 1, p. 20-22.
249. Khan R.A., Campbell J., Lear H. — *J. Wildlife Diseases*, 1981, 17, № 4, p. 521-527.
250. Davis J.F., Hayasaka S.S. — *J. Fish Biol.*, 1983, 23, № 5, p. 557-564.
251. Horiuchi M., Sato T., Takagi H., Totsuka K. — *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1981, 47, № 4, p. 561.
252. Канаев А.И. — *Ветеринария*, 1984, № 3, с. 12-14.
253. Van Duijn C. — *J. Small Anim. Pract.*, 1981, 22, № 6, p. 392-411.
254. Körmendy B., Tuboly S., Banki M., Csaba G. et al. — *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 1979, 121, № 4, p. 201-205.
255. Santacana J.A., Conroy D.A., Muijca M.E., Marin C. et al. — *J. Fish Diseases*, 1982, 5, № 6, p. 545-547.
256. Hoffmann R., Graaff S. van de, Burg G. — *Tierärztliche Prax.*, 1983, 11, № 2, p. 261-267.
257. Giavenni R., Finazzi M., Poli G., Grimaldi E. — *J. Wildlife Diseases*, 1980, 16, № 2, p. 161-168.
258. Viallier J., Viallier G., Gastellu J., Joubert L. — *Bull. Soc. sci. vét. med. comp. Lyon*, 1980, 82, № 2, p. 73-81.
259. Majeed S.K., Gopinath C., Jolly D.W. — *J. Fish Diseases*, 1981, 4, № 6, p. 507-512.
260. Majeed S.K., Gopinath C. — *Ibid.*, 1983, 6, № 3, p. 313-316.
261. Kusuda R., Nakagawa A. — *Fish Pathol.*, 1978, 13, № 1, p. 25-31.
262. Ohnishi K., Watanabe K., Jo Y. — *Ibid.*, 1982, 16, № 4, p. 207-210.
263. Yasunaga N., Hatai K., Tsukahara J. — *Ibid.*, 1983, 18, № 2, p. 107-110.
264. Yasunaga N., Yasumoto S., Hirakawa E., Tsukahara J. — *Ibid.*, 1984, 19, № 1, p. 51-55.
265. Farkas J., Olah J. — *Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult.*, Budapest, 1984, p. 47-54.

266. Kitao T., Aoki T., Kanda M. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines. Proc. Symp., Leetown, W.Va., 1981. Basel e.a., 1981,
p. 355–368.
267. Fukuda Y., Kusuda R. — Fish Pathol., 1981, 15, № 3–4, p. 263–269.
268. Fukuda Y., Kusuda R. — Ibid., 1982, 17, № 2, p. 125–127.
269. Fukuda Y., Kusuda R. — Ibid., 1981, 16, № 2, p. 85–89.
270. Eklund M.W., Peterson M.E., Poysky F.T., Peck L.W. et al. — Aquaculture, 1982, 27, № 1, p. 1–11.
271. Cann D.C., Taylor L.Y. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 5,
p. 393–399.
272. Huss H.H., Pedersen A. — Nord. veterinærmed., 1979, 31, № 5,
p. 214–221.
273. Микитюк П., Рягин С. — Науч. тр. Укр. с.-х. акад. Киев,
1979, 216, с. 192–193.
274. Мирзоева Л. — Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ. Сер.
Рыбохоз. использов. внутр. водоемов. М., 1984, вып. 4,
p. 11–12.
275. Boyd C.E., Hollerman W.D., Plumb J.A., Saeed M. — Progr.
Fish-Cult., 1984, 46, № 1, p. 36–40.
276. Cone D.K. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 6, p. 479–485.
277. Sato N., Yamane N., Kawamura T. — Bull. Jap. Soc. Sci.
Fish., 1982, 48, № 11, p. 1551–1557.
278. Boomker J., Imes G.D., Cameron C.M., Naude T.W. et al. —
— Onderstepoort J. Vet. Res., 1979, 46, № 2, p. 71–77.
279. Barham W.T., Smit G.L., Schoonbee H.J. — J. Fish Biol.,
1980, 17, № 3, p. 275–281.
280. Michel C. — J. Wildlife Diseases, 1981, 17, № 4, p. 505–510.

МИКОЗЫ, МИКОТОКСИКОЗЫ И АЛЬГОВЫЕ БОЛЕЗНИ РЫБ

Л. И. Грищенко

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что микозные инфекции у рыб известны с 1748 г. [1], когда впервые был зарегистрирован сапролегниоз, до сих пор ихтиомикопатологии не уделяется должного внимания [2]. В основном прослеживается два аспекта исследований по микозам рыб: изучение этиологии и факторов, способствующих возникновению микoinфекций; и разработка мер борьбы, среди которых преобладают поиски различных химиотерапевтических средств.

В последние годы выявлено ряд новых грибных инфекций у рыб, культивируемых в бассейнах и прудах. Но многие из них остаются неклассифицированными, поскольку систематические признаки водных грибов недостаточно полно изучены. Нет полной ясности об истинной патогенности грибов для рыб, слабо исследованы физиолого-биохимические и патоморфологические аспекты патогенеза микотических заболеваний.

В связи с интенсивным развитием индустриального рыбоводства особую актуальность приобретают также вопросы профилактики микотоксикозов, исследование которых в ихтиопатологии только начинается.

Наконец, выращивание рыб в сильно эвтрофированных водоемах выдвигает проблему борьбы не только с воздействием на ихтиофауну токсинов сине-зеленых и других водорослей, но и предупреждения альгальных болезней рыб. Поскольку грибы представляют обширную группу низших растений, логично рассмотреть их совместно с водорослями, способными вести паразитический образ жизни.

1. Микозы рыб

Мир грибов настолько обширен и разнообразен, что теперь трудно представить какую-то среду внешнего мира или отрасль

деятельности человека, которая не была бы связана с грибами. Они обитают в почве, воздухе, воде, растут на различных органических субстратах, изменяют их свойства и участвуют в процессах разложения органических загрязнителей окружающей среды. Полезные качества грибов используют в пищевой промышленности, медицине, ветеринарии и других отраслях. Но многие грибы наносят существенный вред, вызывая болезни различных животных [3].

В отличие от других представителей низших растений грибы, лишённые хлорофилла, могут использовать для питания только готовые органические вещества (сапрофиты и паразиты) и поэтому относятся к гетеротрофным организмам. Деление грибов на сапрофитов и паразитов весьма условно, так как для возникновения грибной инфекции у животных, в том числе рыб, важнейшую роль играет состояние макроорганизма. Чаще всего микозы рыб возникают на фоне ослабления общей резистентности их организма, вызванного действием различных факторов.

1.1. Классификация микозов рыб

Все заболевания микотической этиологии подразделяют на две большие группы: микозы и микотоксикозы.

Микозы характеризуются внедрением и развитием патогенных грибов в организме животного. По своему течению, эпизоотологии, патогенезу они имеют много общего с болезнями бактериальной и вирусной этиологии. Поэтому микозы относятся к инфекционным заболеваниям. Микотоксикозы возникают при поедании животными растительных кормов, пораженных токсинообразующими грибами. Вся группа микотоксикозов неинфекционна.

По характеру воздействия возбудителей на организм рыб различают 3 группы микозов: наружные (дерматомикозы), внутренние (глубокие микозы) и гниение жабр (бранхиомикоз) [2,4]. Другие авторы их разделяют только на две категории: поверхностные, поражающие внешние покровы, и глубокие, или висцеральные, характеризующиеся поражением внутренних органов и тканей [3].

Классификация грибов, выделенных от рыб, пока не совершенна. По [1] она представлена в таблице 1.

Поражение рыб грибами встречается повсеместно в прудах, садках, бассейнах, аквариумах и других водоемах. Наиболее распространены и изучены сапролегниоз, бранхиомикоз, ихтиофо-

ноз. Сейчас появляется все больше сообщений о микозах (преимущественно висцеральных) в условиях индустриального рыбоводства.

1.2. Сапролегниоз (дерматомикоз)

Сапролегниоз является типичным поверхностным микозом рыб, поражающим икру, кожу и жабры в результате нарушения их целостности.

Этиология. Если раньше считали, что возбудителем сапролегниоза являются грибы из рода *Saprolegnia*, то сейчас твердо установлено участие в развитии этой инфекции многочисленных видов других водных грибов. Наиболее часто сапролегниоз вызывают два рода грибов — *Saprolegnia* и *Achlya*. Из них в водоемах СССР от карповых и лососевых рыб выделяются *S. parasitica*, *S. mixta*, *S. ferax*, *S. monoica*, *A. flagellata*, а также один вид рода *Dictyuchus* [5,6].

У индийских рыб выделены патогенные грибы из 5 родов фикомицет: *Saprolegnia*, *Achlya*, *Aphanomyces*, *Leptomit*, *Pythium*. Они изолированы из мальков и икры 18 видов пресноводных рыб и от десятиногих раков [7,8,9]. При экспериментальном заражении рыб патогенными оказались следующие виды: *Achlya diffusa*, *A. dubia*, *A. flagellata*, *A. prolifera*, *A. orion*, *Achlya* sp., *Aphanomyces*, *Aph. laevis*, *Dictyuchus sterile*, *Saprolegnia* sp., *S. ferax*, *S. parasitica*, *S. diclina* [9].

Из них наиболее распространены *S. parasitica* и *S. ferax*. *Aphanomyces stellata* наблюдали у 15% мальков большого карпа, содержащихся для опытов в пластиковых емкостях.

Pythium sp. отмечали у 10% икринок и 5% мальков форели. *Leptomit* sp. выявляли вместе с *Saprolegnia* sp. на икре радужной форели и северной щуки. У мальков большого карпа поражение *L. libertae* сопровождалось образованием пузырьков в области хвоста. Гриб был в ассоциации с *Achlya racemosa*.

На икринках икрыных пресноводных десятиногих раков обнаруживали *Achlya racemosa*, заболеваемость достигала 50% [8].

В 1975 г. из икры индийских карповых был выделен новый патогенный гриб *Isoachlya anisospora* (var. *Indica*). В лабораторных условиях гриб выращивали на прокипяченных половинках зерен конопли. Патогенность проверяли на икре карпа, а также на взрослых особях карпа, белого толстолобика, белого амура и других рыб в диапазоне температур от 20 до

Таблица 1.

Классификация грибов, выделенных от рыб

Царство	Подтип	Класс	Род
Protista		Oomycetes	Achlya
			Aphanomyces
			Caliptrolegnia
			Dictyuchus
			Isoachlya
			Leptolegnia
			Leptomitius
			Saprolegnia
			Thraustotheca
	Apicomplexa (?)		Dermocystidium
	Microsporidium		Ichthyosporidium
Fungi		Chytridiomycetes	Ichthyophonus
		Zygomycetes	Basidiobolus
		Coelomycetes	Phoma
		Blastomycetes	Candida
			Prototheca*
		Hyphomycetes	Cladosporium
			Exophiala
			Fusarium
			Gibellilopsis
			Penicillium
Некласси- фицирован- ные			Scoleobasidium
			Branchiomyces
			Cycloptericola
			Ichthyochytrium
			Filamentomyces
			Nephromyces

Примечание: * Классифицируется также, как водоросль.

35°. На поврежденных участках тела (срывах чешуи) гриб прорастал через 16 ч, а гибель рыб наступала через 102-140 ч после заражения. Гибель икры от грибной инфекции сос-

тавляла 60%. Полученные личинки также заразились грибом, в результате чего выросло до сеголетков только 12% личинок. На основании этих исследований сделан вывод, что этот гриб является новым патогенным агентом пресноводных рыб и их икры [10,11].

Пересматривается таксономическое положение двух видов комплекса *Saprolegnia parasitica* — *diclina*, выделенных от лососевых. Высказано мнение, что *S. parasitica* Coker следует рассматривать как синоним *S. diclina* Humphery [12,13].

От нерки и радужной форели в Японии и от плотвы во Франции выделено два других вида сапролегнии *S. australis* Elliot и *S. shikotsuensis* Hatai, которые были сходны с *S. parasitica* и отличались от нее формой и величиной полового аппарата, зооспор и других морфологических признаков. Грибы поражали в основном спинной и хвостовой плавники. Их патогенность подтверждена экспериментально [14,15,16].

Установлено патогенное влияние представителей рода *Dicthyuchus* *D. anomalous* [15] и *D. monosporous* [16]. Первый вид зарегистрирован у змееголова *Channa punctatus*. Заболевание обнаружено в феврале—марте в виде хлопковидного пятна на теле. При экспериментальном заражении рост гриба на теле рыб наблюдали на 7-й день, после этого через 24 часа рыбы погибали. *D. monosporous* выявлен на сазанах, карпах, толстолобиках и их икре в рыбоводных прудах, каналах и коллекторах Узбекистана. Он находился в симбиозе с представителями рода сапролегнии, ахлии, миксоболосами, хилодонеллами, триходинами и другими эктопаразитами. Повреждения поверхности тела способствовали более быстрому заражению рыб этими грибами.

Интересный случай афаномикоза рыб отмечен в индийских водах у взрослых особей *Cirrhinus mrigala* (Ham.), вызванный типичным почкообразующим изолятом *Aphanomyces pisci* sp. nov. Он отличается от сапролегниоза тем, что вызывает почернение и последующее выпадение чешуи с обнажением мускулатуры. После этого рыба погибает. В государственных прудовых хозяйствах заболеваемость и гибель рыб достигала 90% [19].

Вышеназванные малоизвестные грибы характеризуются следующими морфологическими признаками [8].

Aphanomyces stellata (de Bary): мицелий диффузный, не сегментированный; гифы тонкие диаметром 3,8–5,7 мкм; зооспорангии длинные, нитевидные размером 360–665 × 4,9 – 7,3 мкм; гифы и зооспорангии дифференцируются с трудом; зооспоры

внутри спорангия в один ряд; выход зооспор не постоянный; оогонии звездообразные, боковые с одной округлой оосферой.

Leptomitus libertae (Agradh): мицелий сегментированный с плотным основным сегментом размером $76-142,5 \times 38-57$ мкм; оогоний мало, они размещены латерально, округлые диаметром 5-6,5 мкм.

Pythium sp.: мицелий обширный разветвленный, гифы тонкие диаметром 10,5-12 мкм; спорангии немногочисленны, расположены на конце гиф овальной формы размером $50-125 \times 30-60$ мкм; зооспоры выходят в слизистом пузырьке диаметром $40-100 \times 40-50$ мкм; зооспоры размером 5-7,5 мкм.

На рисунке 1 представлены основные отличия зооспорангиев, зооспор и оогоний возбудителей сапролегниоза [2].

Культивирование грибов чаще проводят на стерилизованных нагреванием конопляных семенах, внесенных в агаровые пластины (1,5%-ный агар на воде), которые нарезают блоками и на каждый блок помещают одно зерно [20]. Для предупреждения бактериального загрязнения в чашки Петри с блоками наливают растворы фунгицида (20 мг/мл хлороцида и др.) Штаммы очищают на геркулесовой среде: овсяная крупа (геркулес) - 50 г, агар - 15 г, дистиллированная вода - 1000 мл.

На конопляных зернах гифы развиваются при комнатной температуре через 2-4 дня и выживают несколько месяцев. На геркулесовом агаре изоляты или не дают половых органов, или же они бывают с различными дефектами.

Оптимальной температурой роста сапролегнии является 25° , обильный рост наблюдался также при 5° . При 30° рост замедлялся, а при 35° прекращался. Штаммы ахлия хорошо росли при $25-35^{\circ}$, слабый рост наблюдался при 5° и полностью прекращался при 40°C .

При проверке влияния реакции среды на рост этих грибов установлено, что они способны расти в широком диапазоне pH. По этому показателю 12 штаммов сапролегнии и 12 штаммов ахлий разделены на 3 группы:

- 1) рост при pH от 3,8 до 6,9 - 9 штаммов ахлия и 1 штамм сапролегнии;
- 2) рост при pH 3,8-9,0 - 2 штамма ахлия;
- 3) рост при pH 3,8-11,0 - большинство штаммов сапролегнии и один штамм ахлия.

Таким образом, штаммы сапролегнии способны расти при более широком диапазоне pH [20].

Эпизоотология. Анализ литературы по распространению сапролегниоза свидетельствует, что это заболевание встречается

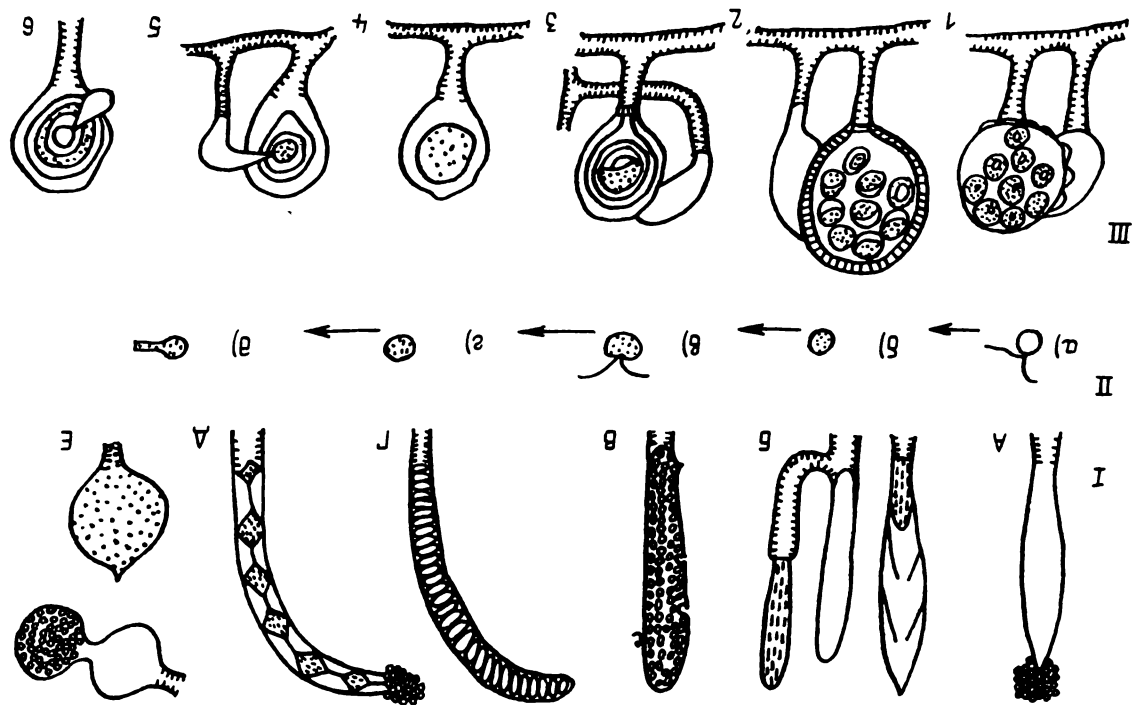


Рис.1. I. Образование зооспор у грибов: А - *Achlya* , Б - *Saprolegnia* (включая *Isoachlya* sp.), В- *Dictyuchus* , Г - *Leptolegnia* , Д - *Aphanomyces* , Е - *Pythium* . II. Превращения зооспор: а) первичная зооспора, б) инцистирование первичной зооспоры, в) вторичная зооспора, г) инцистирование вторичной зооспоры, д) прорастание зооспоры. III. Оогонии плесневых грибов: 1 - *Achlya* , 2 - *Saprolegnia* , 3 - *Dictyuchus* , 4 - *Leptolegnia* , 5 - *Aphanomyces* , 6 - *Pythium*.

повсеместно, начиная с холодных северных водоемов Америки и Европы и кончая тропиками Индии и других стран. Круг хозяев также весьма разнообразен. Поражение происходит как молодых, так и взрослых рыб. Участились случаи сапролегниоза среди взрослых рыб, подвергавшихся травматизации и ослабленных во время нереста. Из лососевых сапролегниоз часто отмечается у взрослой нерки, кумжи, гольца как в естественных водоемах, так и на рыбоводных заводах [21,22]. Патогенность сапролегнии и ахлии доказана на многочисленных карповых (более 20 видов) и холодноводных рыбах Индии [23,24,25,26,27].

В ряде озер Швейцарии изучали распространение зооспор сапролегнии в фильтрах воды и заболеваемость окуня и плотвы [28]. Максимальное количество зооспор обнаружено в береговой зоне в июне и минимальное зимой. В эвтрофных озерах опасность заражения рыб меньше, чем в мезо- или олиготрофных озерах. Выделенные грибы идентифицированы как *Saprolegnia ferax*, *S. parasitica*, *S. delicata*. Отмечено, что у окуня заражение сапролегниозом увеличивается с возрастом. Так, среди годовиков были заражены микозом 0,8% рыб, среди 4-летних рыб - 40%.

Сравнительными исследованиями восприимчивости рыб к сапролегниозу в зависимости от пола показано, что среди половозрелых самцов лососевых заболеваемость значительно выше, чем среди самок. Это объясняется поведенческими особенностями самцов и различиями в структуре эпидермальных покровов - уменьшением концентрации бокаловидных клеток в эпидермисе самцов [20]. Увеличение кортикостероидов в плазме крови и истощение запасов аскорбиновой кислоты повышает чувствительность лососевых к сапролегниевой инфекции [19,29а,29].

Симптомы и патологоморфологические изменения. Наиболее распространенным признаком сапролегниоза являются видимые невооруженным глазом ватообразные налеты на поверхности зараженных рыб. В легких случаях болезни воспалительная реакция слабая или мало заметна, а при тяжелом течении развивается острый воспалительный процесс, сопровождающийся отеком кожи, покраснениями, подкожными кровоизлияниями и повышенным выделением слизи [1].

Поражения могут встречаться в разных участках тела. У взрослой нерки они часто бывают на дорсальной поверхности головы, перед спинным плавником и на других плавниках. Поражаются даже глаза, но реже, чем жабры. Наряду с разрастанием гриба в местах травматических повреждений, отмечено развитие инфекции и в неповрежденных участках тела [19].

Сапролегниозная инфекция у кумжи сопровождалась тяжелой гипопроотеинемией и снижением соотношения альбуминов /глобулинов сыворотки крови до 0,25–0,28 против 0,47–0,50 у здоровых рыб, а также уменьшением основных ионов (Na, K, Ca, Mg). Предполагается, что первичной причиной гибели рыб является нарушение осморегуляции [30].

Гистологическими исследованиями раскрыты некоторые механизмы развития патологического процесса при сапролегниозе. Так, у молоди угрей они начинались с разрушения поверхностного эпителия, затем развивался отек подкожной и межмышечной клетчатки, изъязвление кожи и дегенерация мышечных пучков скелетной мускулатуры. Они сопровождалась мононуклеарной клеточной инфильтрацией тканей [31]. При подкожном введении изолятов сапролегнии в клеточном инфильтрате форели обнаруживали большое количество нейтрофилов, окружающих гифы гриба. В этих случаях не установлено повышения в крови преципитинов, а нормальная плазма не подавляла рост гриба. Считают, что защита радужной форели против гриба связана с клетками инфильтрата, особенно с нейтрофилами [32].

Патогенез. Сапролегниоз проявляется как прогрессивный дерматомикоз. Различные повреждения целостности кожи, ослабляющие ее защитные свойства, способствуют заражению рыб сапролегниозом. На последних стадиях болезни патологические изменения можно найти во многих внутренних органах, особенно в сердце и печени [1]. Следовательно, дерматомикоз может перейти в генерализованную форму болезни.

Диагностика. Диагноз на дерматомикоз ставится на основании внешних признаков болезни и микроскопического исследования свежих соскобов кожи, в которых выявляется как мицелий, так и подвижные зооспоры. Идентификацию видов гриба следует проводить путем культивирования его на питательных средах и выделения чистой культуры. Из питательных сред наиболее употребительны агар Сабуро, зерновой (хлебный) агар и др. [1].

Профилактика и меры борьбы. Для предотвращения заболевания рыб сапролегниозом необходимо создавать благоприятные условия кормления и содержания, исключая ослабление их организма и травматизацию кожных покровов. Для профилактики сапролегниоза икры необходимо снижать количество неоплодотворенной икры, не допускать ее травматизации во время осеменения, а также систематически отбирать из аппаратов неоплодотворенные, мертвые икринки. Важно также проводить

очистку воды от механических примесей, что может быть причиной повреждения оболочек икры [5].

Многими авторами показана высокая фунгицидная активность против смешанной инфекции дерматофитами малахитового зеленого в концентрации 0,2–0,5 мг/л [5,33].

В настоящее время разработана методика испытания новых водных фунгицидов *in vitro*, которая показала высокую надежность, воспроизводимость и перспективность в смысле удешевления экспериментальной работы [34,35,36]. При этом для тестирования фунгицидной активности новых препаратов используется малахитовый зеленый.

Наиболее удобным и надежным оказался метод агарово-пробочного переноса. Опыты проводили на 3-х видах грибов из рода сапролегния и 2-х видах ахлия при температуре 16–20°, pH 6,0 ± 0,2. Агаровые пробки извлекали из края активно растущих колоний, погружали в растворы, содержащие разные концентрации (1,0; 10,0 и 100,0 ч. на млн.) испытуемых веществ, и инкубировали от 15 до 60 мин. После воздействия препаратов пробки промокали на фильтровальной бумаге (поры 0,45 мкм), промывали стерильной водой и затем помещали на среду с кукурузной мукой в трехсекционные чашки Петри. Рост мицелия проверяли ежедневно в течение 2–7 дней. Критерием для принятия или отказа от дальнейшего испытания фунгицида служило сравнение индекса антифунгального спектра между соответствующими веществами и малахитовым зеленым. Учет результатов проводили через 48 ч до концентрации, вызывающей полное подавление роста грибов. Вещества, индекс антифунгального спектра которых был меньше 50%, чем малахитового зеленого, или не подавляли рост в количествах более 100 ч. на млн, отвергались [35].

Использован и другой метод оценки по баллам 1–3, где за 1 балл принимали подавление роста при наивысшей концентрации; 2 – при двух высших концентрациях и 3 – при всех концентрациях. Статистический анализ проводили с помощью *t*-теста Стьюдента [36].

Из испытанных 40 возможных противогрибковых препаратов полностью подавляли рост гриба 6 препаратов (при 1,10 и 100 ч. на млн): малахитовый зеленый оксалат, бриллиантовый зеленый, кристаллиовиолет, далия, иодистый зеленый, тиомерсал. Частично подавляли рост 7 препаратов при концентрации 10 и 100 ч. на млн.: этил-виолет, дихлорафен, халквинол, салициланид, тербутрин, гексилрезорцинол, дефунгит; и 6 препаратов при 100 ч. на млн.: 8-гидроксиквинальдин, Виктория-блю 4 R, родамин Б, курзат, тиофлавин-Т и Чикаго небесный голубой

[34]. Поиски новых фунгицидов были связаны с тем, что малахитовый зеленый был запрещен в США для применения в ихтиопатологии из-за его потенциальных тератогенных и канцерогенных свойств.

Наряду с изучением фунгицидной активности *in vitro* проведены исследования переносимости ряда препаратов в опытах на рыбах [37,38]. При этом получены следующие результаты. Кристалли violet эффективен при концентрации 0,002% (20 мг/л) в течение часа. Она является переносимой для рыб.

Формалин – терапевтическая концентрация 0,01% (100 мг/л), переносимая в течение 30 мин. – 0,1% (1000 мг/л). Хромовокислый калий – терапевтическая концентрация 0,125–0,25% (1250–2500 мг/л), переносимая в течение 30 мин. 0,25%.

Перманганат калия – терапевтическая концентрация 0,02% (200 мг/л) токсична для рыб. Хлористый натрий – терапевтическая концентрация 1% безвредна для рыб при экспозиции более 1,5 час. Поскольку перманганат калия (0,02%), гидрохинон (0,04%), нейтральрот (0,01%), мербромин (0,1%), бихромат калия (0,1%) в терапевтических концентрациях вызывали токсический эффект, они рекомендованы только для местной аппликации инфицированных участков кожи рыб.

Показано, что хромовые соединения ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, CrO_3) подавляют рост грибов и безвредны для икры рыб в концентрации 0,2–0,5 г/галлон (50–120 мг/л). Препараты добавляют в воду в указанных концентрациях или в виде твердого вещества на длительное время [39].

Эффективным фунгистатиком (против *Saprolegnia diclina*) является морская вода при ежедневной обработке икры в течение 2–3 час. Воду подавали в инкубаторы с таким расчетом, чтобы происходило постепенное повышение солености (до 22,6–30‰) и температуры (перепад не выше $4,8^\circ$). Выживаемость икры в гравийных инкубаторах достигала 68% (против 41% в необработанных), а в лоточных инкубаторах – 96% [40].

Сильной токсичностью для грибов обладает 1,3,7-триметилксантин (кофеин), выделенный из семян кофе арабика. В концентрации 0,2–0,5% его фунгицидные свойства проявлялись *in vitro* на четырех патогенных для рыб сапролегниевых грибах (*Achlya* sp., *A. orion*, *Saprolegnia ferax*, *Aphanomyces laevis*). На рыб *Colisa lalia*, *Puntius sophore*) он не оказывал летального эффекта в течение 27–100 час. [41].

В СССР против сапролегниоза, кроме малахитового зелено-

го, применяются технические красители фиолетовый "К" и основной ярко-зеленый (оксалат). В Узбекистане хороший профилактический эффект получают при обработке икры форели, буффало и карпа малахитовым зеленым и фиолетовым "К" в концентрации 3–4 мг/л и экспозиции 30 мин. В чувствительных периодах инкубации (стадия гаструлы, глазка, перед выклевом) обрабатывать икру химикатами не рекомендуют. При такой обработке выход личинок составляет 80–90% [42]. Этот препарат испытан и внедрен в производство для борьбы с сапролегниозом икры белорыбицы. Он вводится в аппараты по специальной схеме в концентрации 5 мг/л воды [43].

Для подавления сапролегниевых грибов, поражающих производителей белорыбицы при искусственном воспроизводстве, используется технический органический краситель основной ярко-зеленый (оксалат) в концентрации 0,15 г/м³ с экспозицией 30 мин. В результате обработки рыб данным препаратом гибель производителей снизилась почти на 10% [44].

1.3. Микозы жаберного аппарата

Жабры рыб могут поражаться различными грибами. Наиболее известными заболеваниями грибковой этиологии являются бранхиомикоз, сапролегниоз и дермоцистидиоз. Однако, публикации по ним немногочисленны и болезни остаются до сих пор слабо изученными.

1.3.1. Бранхиомикоз

Бранхиомикоз – одна из массовых болезней прудовых рыб, распространенных в южных зонах СССР и других странах. Болезнь характеризуется внезапностью появления, быстрым течением и значительной гибелью рыб, особенно карпов. Многие стороны эпизоотологии заболевания и биологии возбудителя пока не выяснены и требуют дальнейших исследований [5].

Заболевание подробно освещено на основании исследований 1950–1970-х годов [5,45].

Этиология. Возбудителями бранхиомикоза являются *Branchiomycetes sanguinis* и *B. demigrans* Wundsch. Несмотря на то, что морфология и культуральные свойства этих грибов достаточно подробно изучены, их систематическое положение не определено [1].

Эпизоотология. Бранхиомикоз поражает карпа, линя, сереб-

ряного карася, шуку, а также некоторых сиговых и форель [5]. На Тайване зарегистрирован случай бранхиомикоза среди выращиваемых японских угрей, который был вызван грибом, сходным с *B. sanguinis* [46]. Грибные гифы найдены в артериях жаберных лепестков и капиллярах респираторных складок. Спороброобразование наблюдали в хорошо разросшихся гифах. В жабрах отмечали тяжелые сосудистые расстройства в виде гиперемии капилляров, кровоизлияний и отложения фибрина. В эпикарде обнаруживали метастазы гиф и спор, а в селезенке – только споры.

Симптомы и патологоморфологические изменения. Признаки поражения жабр при бранхиомикозе в стадии яркого проявления болезни довольно характерны и подробно описаны. В то же время начальные стадии патологического процесса практически не изучены. К характерным чертам бранхиомикоза, кроме известной мозаичности жабр, следует отнести, по нашему мнению, также узелковые утолщения жаберных лепестков, возникающие вследствие закупорки капилляров гифами гриба и последующего очагового застоя крови, а также накопления воспалительного инфильтрата в тканях [46]. Если в лейкограмме больных бранхиомикозом рыб отмечают значительные сдвиги, то в красной крови не выявлено существенных изменений [47].

Диагностика. Диагноз на бранхиомикоз ставят на основании эпизоотологических, клинических, патологоморфологических данных с обязательным обнаружением гриба в нативном материале или гистологических срезах. При этом следует исключить поражение жабр эктопаразитами, а также сангвиникоз, вирусный и незаразный бранхионекроз.

Профилактика и меры борьбы. Основой профилактики бранхиомикоза считают создание в прудах оптимальных условий среды, исключающих накопление в них излишнего количества органических веществ и эвтрофикацию водоемов. Для этого необходимо систематически проводить летование прудов, а в случае угрозы возникновения болезни вносить в воду известь из расчета 150–200 кг. на 1 га. Обсуждается вопрос о наложении карантина по бранхиомикозу, поскольку возбудителя болезни относят к сапрофитам [5].

1.3.2. Дермоцистидиоз

Эпизоотии дермоцистидиоза наблюдали в Японии и ФРГ среди выращиваемых в прудах европейских угрей [48,49].

Возбудитель обозначается как *Dermocystidium anguillae* [48] и *D. branchialis* [49].

Паразит располагался в соединительной ткани жаберных лепестков в виде беловатых цист величиной 200–600 мкм, содержащих внутри большое количество спор диаметром 6–13 мкм. Проведено электронномикроскопическое исследование спор [49]. Попытки вырастить гриб на некоторых питательных средах не увенчались успехом [48]. При искусственном повышении температуры воды в резервуарах с 20 до 30°C цисты гриба исчезали из жабр всех угрей через несколько дней. Поэтому указывают на возможность борьбы с этой болезнью содержанием рыб в теплой воде [48].

1.4. Внутренние (глубокие) микозы

В последнее время все чаще появляются сообщения о поражении грибами внутренних органов и мускулатуры и заболевании рыб глубокими или висцеральными микозами. Из них наиболее подробно изучен икhtiофноз. Кроме того, от рыб выделяют ряд других грибов, эпизоотологическое значение которых определено еще недостаточно, хотя они вызывают в организме патологические изменения.

1.4.1. Икhtiофноз

С тех пор, как это заболевание было впервые выявлено Гофером, ведется дискуссия о таксономическом положении возбудителя болезни. Поэтому она описана в разных источниках под двумя названиями икhtiофноз или икhtiоспоридиоз. Исходя из того, что в последнее время выявлены некоторые отличия между *Ichthyosporidium gasterofilum* и *Ichthyophonus hoferi*, высказывается мнение оставить прежнее название болезни – икhtiофноз [45].

Этиология. Возбудитель болезни – гриб *Ichthyophonus hoferi* имеет округленную или яйцевидную форму тела (толлома), цитоплазма которого содержит мелкие гранулы. В зависимости от стадии развития гриба его размеры варьируют от 6–20 мкм (молодые формы) до 210 мкм (зрелые формы). В пораженных органах гриб окружается грануляционной тканью с образованием цист.

Гриб культивируют на агаре с добавлением 1%-ной коровь-

ей сыворотки. Культуру можно поддерживать на среде до 14 мес. [50]. Рост идет при температуре 3–20°, оптимальной является 10°C.

Попадая в пищеварительный тракт рыб, цисты гриба распадаются и из спор здесь прорастают плазмодии (амебобласты), которые проникают через эпителий и разносятся по лимфатическим и кровеносным сосудам в различные органы. В паренхиме органов плазмодии разрастаются, отдавая многочисленные дочерние клетки, и постепенно инкапсулируются. Зрелые цисты содержат споры гриба и эндоконидии [45].

Эпизоотология. Ихтиофноз описан у многочисленных пресноводных и морских рыб. Наибольший ущерб он наносит лососеводству и аквариумному рыбоводству. Ихтиофноз выявлен у двух новых хозяев рыб *Mugil* и *Blennius*, у которых заболевание протекало бессимптомно, но сопровождалось поражением печени, почек и селезенки. Поэтому рекомендуется перед использованием этих рыб в аквакультуре обязательно исследовать их на зараженность грибом [51].

Распространение болезни происходит при перевозках больных рыб, а также при скормливании недостаточно обезвреженной рыбы и зараженных грибом беспозвоночных животных [45,50].

Симптомы и патологоморфологические изменения. Признаки ихтиофноза подробно описаны и характеризуются образованием рассеянных узелков в различных органах. Чаще поражается боковая мышца, печень, сердце, почки, реже селезенка, гонады, кишечник, головной и спинной мозг и жабры.

В местах локализации гриба развивается воспаление с последующим формированием гранулем и инкапсуляцией возбудителя. Поверхность органов становится бугристой [рис.2,3], пораженная брыжейка иногда напоминает яичник в ранней стадии развития. Под кожей и в мускулатуре выявляются узелки коричневого цвета. В результате спазма мускулатуры отмечается искривление позвоночника [45,50,52].

У молоди форели отмечена вспышка ихтиофноза в период окостенения хрящей, что привело к деформации костей и уродствам [53].

Диагностика. Диагноз ставится на основании характерных признаков болезни и обнаружении гриба при микроскопии нативных препаратов из пораженных органов: селезенки, почек, печени, сердца, мозга и др. Возбудитель легче выявляется у свежелогибших рыб. Для дифференциальной диагностики рекомендуется красить гистологические срезы по Романовскому—

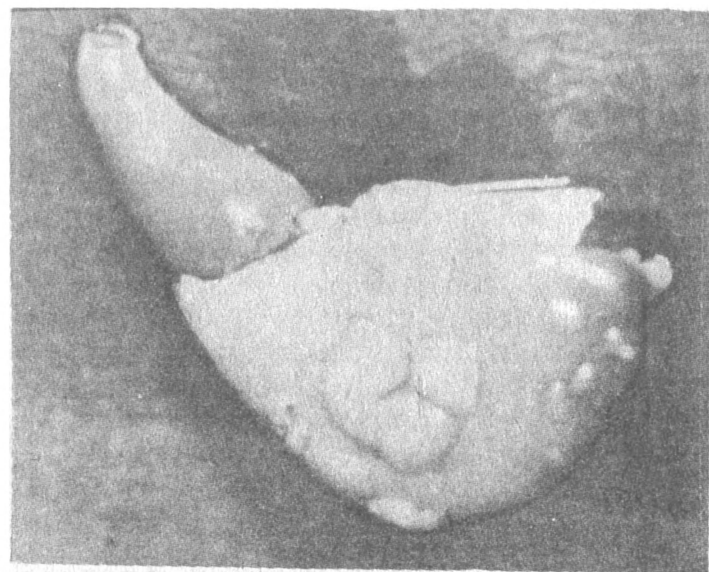


Рис.2. Сердце лиманды Сильное поражение
ихтиофенозом (по D. Ruggieri а.о., 1970).

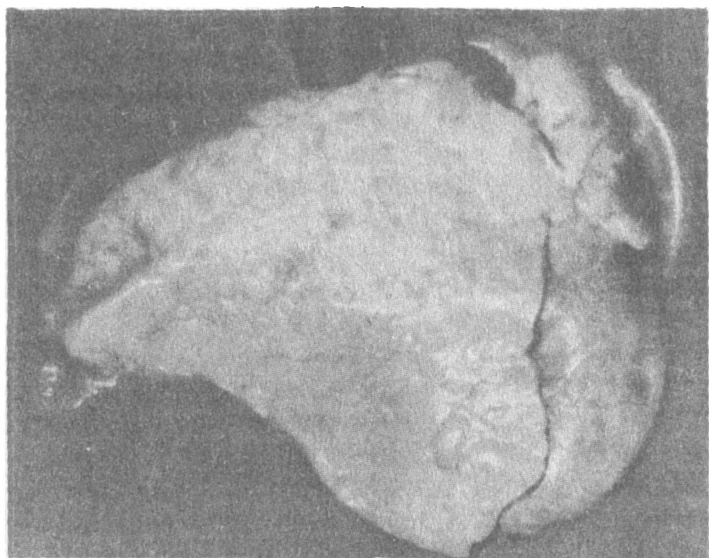


Рис.3. Печень лиманды Бугристая поверх-
ность органа при ихтиофенозе (по D. Ruggieri
а.о., 1970),

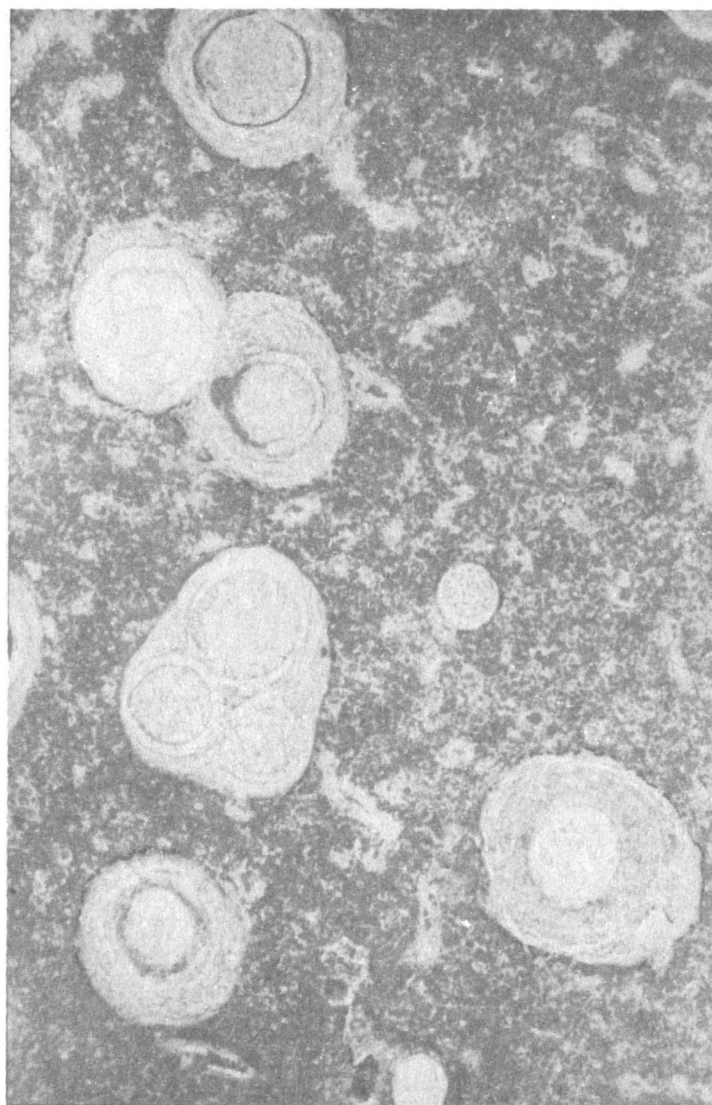


Рис.4. Селезенка лиманды Некроз гранулем в паренхиме (по D. Ruggieri a.o., 1970)

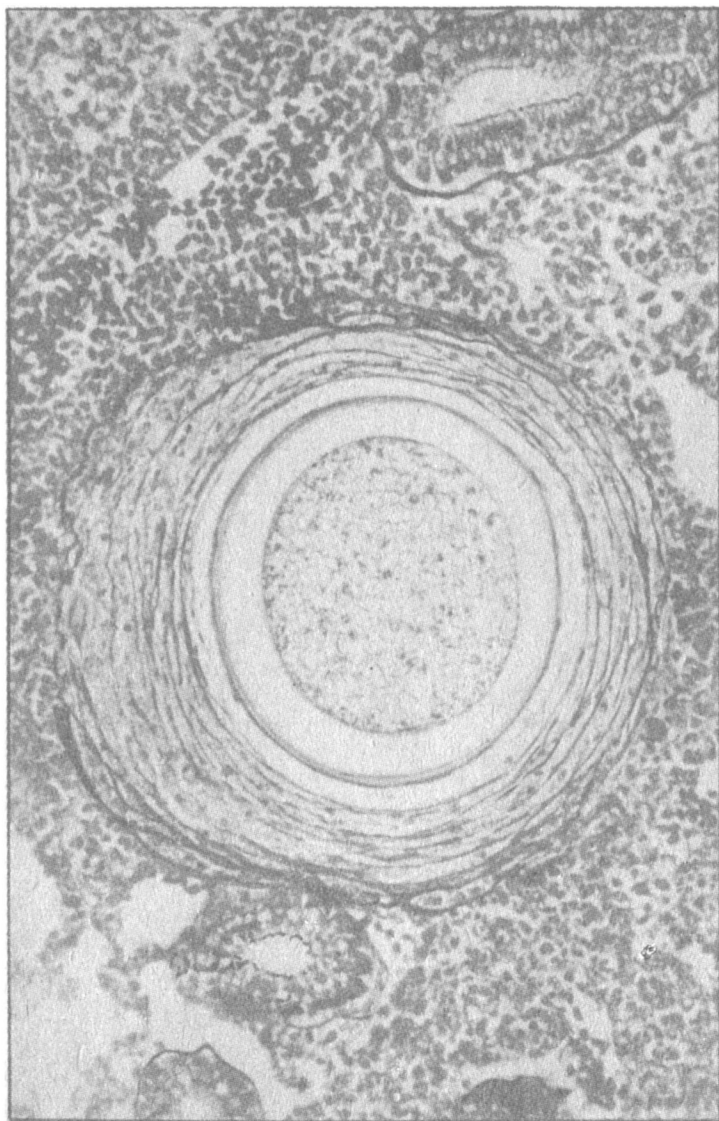


Рис.5. Почка лиманды Инкапсуляция и некроз гранулемы (по D. Ruggieri a.o., 1970)

Гимза. При этом амебобласты окрашиваются в голубой цвет. С целью исключения туберкулеза используют окраску по Циль-Нильсену.

Определенное диагностическое значение имеет обнаружение гранулем в местах локализации гриба. В срезах выявляются гранулемы в разной стадии развития. Вначале гранулемы состоят из гистиоцитарно-фибробластических элементов и эпителиоидных клеток. Затем они инкапсулируются и в центре подвергаются некрозу (рис.4,5). Капсула окрашивается реактивом Шиффа (PAS – положительна), а плазма амебобластов дает положительную реакцию на гликоген при окраске по Бауэру [50]. Разrost многочисленных гранулем приводит к атрофии и склерозу паренхимы органов.

Профилактика и меры борьбы. Профилактика заболевания основывается на соблюдении общих ветеринарно-санитарных правил: контроль за перевозками рыб из неблагополучных хозяйств или из-за границы, скармливание форели морской рыбы только после термической обработки, дезинфекция прудов и других емкостей для рыбы. При возникновении болезни заболевших рыб изолируют, а погибших подвергают утилизации сжиганием или закапыванием. Пруды дезинфицируют негашеной или хлорной известью. Воду дезинфицируют хлором (200 мг/л) или малахитовым зеленым (290 мг/л). Эффективных лечебных средств против ихтиофоза не найдено [45,50].

1.4.2. Эксофиаламикоз

Заболевание выявлено в 70-е годы только на лососевых заводах или в аквариумах Японии, Норвегии, Шотландии и Исландии.

Болезнь характеризуется системным поражением органов брюшной полости, из которых выделены грибы из рода *Ectophiala*. В литературе описаны в основном спорадические вспышки, при которых проведены малочисленные исследования.

На ряде ферм Японии отмечали микоз среди мальков радужной форели и лососей, который проявлялся увеличением брюшка и сильным ростом мицелия гриба в брюшной полости. Гибель рыб составляла 10-20% [55]. От больных мальков лосося путем инокуляции материалов из брюшной полости на декстрозный агар Сабуро и инкубации при 20°C выделили два рода грибов: *Saprolegnia diclina* и неидентифицированный штамм GFA 7502. На питательной среде этот штамм не давал ясной споруляции, а имел только ветвящийся мицелий с септированными гифами.

Гистологическими исследованиями показано, что оба рода гриба распространялись из стенки желудка в пилорические придатки, поджелудочную железу, селезенку, печень, почки, скелетную мускулатуру, в просвет сосудов и другие органы. Неидентифицированный гриб обнаруживали также в стенке плавающего пузыря. В пораженных органах развивались воспалительные процессы, некроз паренхимы и закупорка сосудов гифами грибов [56,57].

Сходная инфекция зарегистрирована на норвежских рыболовных фермах среди атлантических лососей [58]. Выделенный гриб идентифицирован как *Exophiala pisciphilus*, но не исключено также участие гриба *E. salmonis*. Спорадические случаи выделения этих грибов отмечали на многих фермах, но массовую гибель рыб, обусловленную заболеванием, наблюдали лишь на одной ферме. У больных рыб регистрировали в почках сероватые узелки казеозного некроза, содержащие гифы гриба и гигантские клетки. Но нередко встречали рост гриба и в других органах.

Системный эксофиалоподобный микоз наблюдали в Исландии среди морских рыб (*Amphiprion sebae*, *Hippocampus hidsonius*, *Gadus morhua*) содержавшихся в аквариумах. Заболевание воспроизведено экспериментально у *Tautoglabrus adspersus*, *Pseudopleuronectes americanus* и *Fundulus heteroclitus* путем внутрибрюшинной инъекции спор и гиф выделенного гриба.

У естественно больных рыб обнаруживали бледные или желтоватые участки в печени, почках, миокарде, селезенке и плавающем пузыре. На гистологических срезах выявляли острую воспалительную реакцию, фокусы некроза в паренхиме, а также образование клеточных гранул не только в вышеперечисленных органах, но и в мозге, скелетной мускулатуре.

Аналогичная картина болезни воспроизведена у экспериментально зараженных рыб. Но при инокуляции спор чаще развивался некроз тканей, а при введении гиф — пролиферативно-клеточная реакция [59].

На некоторых рыбзаводах южной Шотландии у пестряток лосося наблюдали подобную грибную инфекцию, вызванную грибом из той же группы, но идентифицированным условно как *Phialophora* sp. [60]. Болезнь протекала при температуре воды 5–6°C с конца января до марта. У больных рыб отмечали истощение, кровоизлияния на плавниках и брюшной стенке, выпячивание и гиперемия ануса, сильное отделение слизи. В брюшной полости — розоватая жидкость, печень и селезенка бледные, почки увеличены, сероватые, задний отдел кишечника воспален.

Стенка плавательного пузыря неровная, мутная, в полости пузыря – беловатая слизистая масса. На поверхности внутренних органов, особенно на заднем отделе почек и кишечника видны беловато-розовые наложения.

Гистологически в твердых наложениях обнаруживали мицелий гриба во всех органах. Но наиболее сильно были поражены плавательный пузырь и стенка заднего отдела кишечника, что приводило к воспалению и некрозу их тканей. Мицелий гриба прорастал в соседние органы и жировую ткань, не проникая вглубь их паренхимы. Поэтому изменения в них ограничивались пролиферативным воспалением. Сильное разрастание гриба в области почек сочеталось с проникновением его в мускулатуру и образованием в ней очагов некроза.

Гриб, выделенный из плавательного пузыря, хорошо культивировался на агаре Сабуро, солодовом и картофельно-декстрозном агаре. По культурально-морфологическим свойствам он отнесен к роду *Phialophora*. Однако, в заключение авторы указывают на большое сходство этой болезни с патологией, описанной при поражении мальков лососевых грибом *Phoma herbarum* Westend, для которой характерно поражение плавательного пузыря, отсутствие гигантских клеток, эпителиоидные гранулемы и т.д. В связи с этим уместно предположить, что описанный в нашей стране микоз плавательного пузыря лососевых [61,62] входит в рассматриваемую группу глубоких микозов рыб, хотя его возбудитель отнесен к виду *Phoma herbarum*.

Таким образом, из приведенной литературы очевиден тот факт, что глубокий микоз, связанный с выделением представителей рода *Exophiala*, могут вызвать и другие группы грибов. Поэтому углубленные исследования свойств выделяемых грибов, определение их таксономии, экспериментальное подтверждение патогенности возбудителей в сочетании с выявлением характера патологии у естественно больных и зараженных рыб могут сыграть определяющую роль в решении вопроса о нозологии глубоких микозов вообще и экзофиалямикоза в частности.

1.4.3. Микотический грануломатоз

В Японии выявлено новое заболевание – микотический грануломатоз, характеризующийся образованием гранул в мускулатуре и внутренних органах рыб, разводимых в прудах [63,64,65].

Этиология. Возбудителем болезни считается гриб, система-

тическое положение которого еще не определено. Условно он назван MG-гриб. В пораженных органах гриб имеет гифы диаметром 11–26 мкм, не образует спор, конидий и оогоний. Предполагают, что прорастающие на поверхность тела гифы обламываются и служат заразным началом. MG-гриб культивируется на специально разработанных средах: рыбно-мясном агаре (FME) и глюкозо-дрожжевой среде.

Рыбно-мясной агар (FME) готовят из свежего гомогенизированного мяса различных рыб, разбавляя его в 10-кратном количестве дистиллированной воды, кипятят 30 мин, добавляют 1,5% агара. После его растворения среду фильтруют, вносят 1% глюкозы и стерилизуют при 110°C в течение 20 мин.

Глюкозо-дрожжевая среда дает худшие результаты, но вполне пригодна. На 1000 мл. дистиллированной воды берут 2,5 г дрожжевого экстракта (Дифко), 15 г агара, доводят до кипения, добавляют 10 г глюкозы и стерилизуют при 110°C в течение 20 мин. После автоклавирования и охлаждения до 50°C в среды стерильно вносят антибиотики: ампицилин 800 мг и стрептомицин 150 мг на 1000 мл среды [цит. по 66].

Гриб хорошо растет при 15–30°C и pH 5–9, не образуя репродуктивных органов. При 5 и 37°C рост гриба прекращается.

Патогенность возбудителя доказана путем внутримышечной инъекции агаровой культуры серебряным карасям и аю.

Эпизоотология. Заболевание впервые зарегистрировано в 1971 г. и затем ежегодно повторялось в прудах и естественных водоемах Японии. Чаше болеют разводимые в прудах аю (*Plecoglossus altivelis*), золотые рыбки, форель, в меньшей степени – рыбы естественных водоемов: карп, бычок, кефаль и др.

Вспышки заболевания наблюдаются в летне-осенний период, когда температура воды понижается с 20 до 15°C. Способствуют возникновению болезни разные манипуляции с рыбами, загрязнение воды и сверхплотные посадки.

Симптомы и патологоморфологические изменения. На разных участках тела обнаруживают припухлости с ерошением чешуи и кровоизлияниями. Позже кожа в этих участках бледнеет и отпадает, образуются язвы красного цвета глубиной до 8 мм.

Микроскопически в мышцах, на брюшине, внутренних органах и даже в головном мозге обнаруживают гранулеммы разного размера, в центре которых находится мицелий гриба. Под его действием происходит распад тканей, накапливается множе-

ство лимфоидных клеток и эритроцитов. Очаги поражения окружаются эпителиоидными клетками, фибробластами и гигантскими многоядерными клетками диаметром 30–60 мкм. У золотых рыбок наблюдали разрушение хвостового стебля, а при поражении головы – выпадение жаберных крышек, челюстей и глазных яблок.

Диагностика. Диагноз ставится на основании эпизоотологических данных, клинических признаков микоза, а также выделения возбудителя на специальных питательных средах и экспериментального заражения рыб культурой гриба. Для биопробы используют форель, серебряного карася или аю. Измельченную массу гиф вводят внутримышечно и наблюдают в течение 30 дней. Опыты рекомендуются ставить при температуре 19–15°C. Заболевание следует дифференцировать от вибриоза.

Профилактика и меры борьбы. С целью предупреждения микотического грануломатоза рекомендуют снизить частоту пересадок рыб и других манипуляций, уменьшить плотности посадок рыб, очистить воду от загрязнения. Рост гриба *in vitro* ингибируют хлорамфеникол в концентрации 100 ч. на млн., малахитовый зеленый – 1 ч. на млн., циклогексимид – 0,4 ч. на млн. и 1%-ный раствор хлорида натрия. Однако, лечебный эффект их резко снижается из-за плохого проникновения препаратов в глубокие ткани рыб.

2. Микотоксикозы

Внимание ихтиопатологов к микотоксикозам было привлечено с 30-х годов XX века после описания случаев гепатомы у форели. Причиной заболевания являлось скармливание заводских кормов, содержащих большое количество хлопкового жмыха и пораженных плесневым грибом *Aspergillus flavus*, который образует афлатоксин. Из ветеринарной практики известны кормовые микотоксикозы, вызванные не только афлатоксинами аспергиллиусов, но и микотоксинами многих грибов из родов *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichothecium* и т.д. [67].

В настоящее время проблема микотоксикозов рыб встала более остро в связи с интенсивным развитием индустриального рыбоводства, предусматривающего выращивание рыб на искусственных кормах. Алиментарные заболевания, связанные со скармливанием недоброкачественных заплесневелых кормов, описаны у форели, карпов и других рыб. Появилось ряд работ,

посвященных экспериментальному изучению действия микотоксинов на организм рыб.

В Польше участились случаи гибели форели и карпа, вызванные гранулированными кормами, зараженными грибами и их токсинами [68,69]. Афлатоксикоз форели в виде гепатомы возникал при скормливания импортного арахисового и хлопкового шрота, сорго. Афлатоксикоз карпа сопровождался редукцией клеток гепатопанкреаса, малокровием и повышенной гибелью. Отмечена интоксикация карпов зерном, зараженным грибами из рода *Fusarium*. Она проявлялась нарушением равновесия рыб, воспалительными процессами во внутренних органах и сопровождалась гибелью. Для удаления токсинов авторы рекомендуют проварку зерна в течение 90 мин с последующим сливом воды. Пораженные корма обрабатывают также 10%-ным раствором пиросульфата натрия или калия из расчета 8 л раствора на 100 кг корма и выдерживают 48 ч при температуре 135-140°C или 10 мин при 300-350°C [69].

Отмечено комбинированное действие афлатоксинов и развитие гриба *Aspergillus* во внутренних органах форели и тилляпии [70,71].

В садках и экспериментальных прудах исследовали длительное действие корма с содержанием афлатоксина В₁ 20 и 200 мкг/кг корма на состояние организма годовиков, двухлеток, трехлеток карпа [72]. В опытных и контрольных группах учитывали поедаемость корма и смертность рыб. В конце вегетационного периода провели паразитологические, патологоанатомические и гистологические исследования, определяли массу рыб, коэффициент упитанности по Фултону, относительную массу печени, величину гематокрита, число лейкоцитов, содержание общего белка в сыворотке крови, активность сывороточных трансаминаз AST и ALT, содержание жира в сухом веществе печени, а также остатки афлатоксина в мускулатуре и печени К₃ и К₂. Обследовано 90 экз. К₂ и 110 экз. К₃. Результаты опытов показали, что наличие афлатоксина В₁ в количестве 20 и 200 мкг/кг не повлияло на поедаемость корма, смертность рыб и другие показатели. При гистологическом исследовании у К₂ и К₃, кормленных ячменным шротом с добавлением 20 мкг/кг афлатоксина, установили нарушения кровообращения во внутренних органах, в мозгу и жабрах. Корма с содержанием 200 мкг/кг афлатоксина вызывали наряду с этим клеточные инфильтраты вокруг желчных протоков, дистрофию печеночных клеток. Остатки афлатоксина в первом случае составляли в мускулатуре и печени менее 1 мкг/кг

свежей ткани, а во втором случае – в мускулатуре 2,96 мкг/кг, в печени 17,6 мкг/кг свежей ткани. Исходя из полученных результатов, рекомендуют считать концентрацию 2 мкг/кг афлатоксина В₁ как максимально допустимую в корме карпа.

С целью определения чувствительности кижуча к афлатоксину поставлены опыты в бассейнах на молоди массой 20–25 г [73]. Афлатоксин В₁ растворяли в диметилформамиде и вводили рыбам внутривентрально в дозе 3–20 мг/кг при остром и в дозе 5 мг/кг при хроническом отравлениях. Острое отравление после некоторого латентного периода проявлялось гиперемией, затем ожирением, воспалением и некрозом паренхимы печени. Показано, что при однократном введении 5 мг/кг афлатоксина погибало больше рыб и изменения в печени сильнее выражены, чем при пятикратном введении 1 мг/кг. При хроническом отравлении изменения выявлены только в клеточных структурах под электронным микроскопом. Следовательно, этими опытами подтверждается высокая устойчивость кумжи к афлатоксину по сравнению с форелью.

3. Альговые болезни (альгозы)

Значение зеленых водорослей как возбудителей болезней рыб пока изучено недостаточно. Они воздействуют на рыб как вторичная инфекция, поселяющаяся на поврежденных участках кожи, жабрах и других органов и вызывающая различные воспалительные процессы. Этой способностью обладают *Chlorochytrium pisciolens*, *Ichthyochytrium vulgare*, *Cladophora*, *Navicula*, *Gomphonema*, *Achnathes*, *Diatoma*, *Chlorella* и др. [45].

Вторичное гнойничковое поражение костей *Acanthopagrus ciavieiri* зелеными водорослями *Enteromorpha compressa* и *E. clathrata* отмечено в Арабской бухте [74]. Они предпочитали твердый субстрат костей жаберных крышек и плавниковых лучей, но не росли на чешуе и мышцах.

У акул, выловленных в заливе Сан-Франциско и посаженных в аквариум, наблюдали воспаление кожи, которое внешне проявлялось образованием точечных или пятнистых участков побледнения [75]. В воспаленных очагах гистологически обнаруживали много одноклеточных водорослевых клеток, стенки которых окрашивались по Романовскому-Гимза, реактивом Шиффа и импрегнировались серебром. Хотя вид водорослей не определен, высказывается утверждение об их паразитическом характере.

Среди пестряток лосося отмечены спорадические вспышки болезни, вызванной *Prototheca salmonis*. Заболевание сопровождалось гибелью рыб и характеризовалось поражением почек и других внутренних органов [76,77]. Возбудитель изолирован на питательных средах, из которых наиболее подходящий агар с содержанием 2% глюкозы и 1% пептона. Он растет при комнатной температуре (17–22°C) и при 4°C. Колонии на агаре постепенно становятся желтыми. Клетки шаровидные, содержат от 3 до 14 эндоспор. Размеры клеток из культур диаметром 5–20 мкм, а в органах – 4–7 мкм. На ультратонких срезах у них не выявлено пластиноподобных органелл, типичных для этой группы водорослей; оболочки клеток из органов двухслойные, а из культур – однослойные [77].

Мукофилез периодически встречается в карповых хозяйствах Польши [78]. В Венгрии проведены гистологические и электронномикроскопические исследования возбудителя мукофилеза карпов [79]. Наибольшее количество цист *Mucophilus cyprini* в жабрах больных рыб обнаружено после 5–6-недельного пребывания их в лаборатории. На препаратах – отпечатках молодые цисты представлены круглыми прозрачными тельцами диаметром 15–30 мкм, зрелые – шаровидными темными тельцами диаметром 40–80 мкм. Гистологически в цитоплазме клеток выявлены плотные центральные тельца. В созревших цистах центральные тельца бледно окрашены, имеют мелкозернистую структуру. На ультратонких срезах центральные тельца ограничены мембраной и окружены каплями муцина. В них выявлены субъединицы высокой плотности диаметром 0,1–0,2 мкм, расположенные сотовидно. Полагают, что цисты мукофилуса образуются на месте пораженных эпителиальных клеток. Центральные тельца растут за счет последовательных делений субъединиц. Возбудитель отнесен к микроорганизмам типа риккетский или хламидий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Leibovitz L., Pinello C. – J. Amer. Vet. Med. Assoc., 1980, 177, № 11, p. 1110–1112.
2. Srivastava R.C. – *Mycosen*, 1980, 23, № 6, p. 325–332.
3. Петрович С.В. Микотические заболевания животных. М., Россельхозиздат, 1982, 192 с.
4. Mann H. – *Inform. Fischwirt.*, 1978, 25, № 3–4, S. 103–104.
5. Бауер О.Н., Мусселиус В.А., Стрелков Ю.А. Болезни прудовых рыб. М., Легк. и пищев. пром-сть, 1981, с. 70–86.

6. Лабораторный практикум по болезням рыб. Под ред. В.А.Мус-селиус. М., Легк. и пищев. пром-сть, 1983, с. 174-186.
7. Shah K.L., Jha B.C., Jhingran A.G. — *Aquaculture*, 1977, 12, № 2, p. 141-147.
8. Srivastava R.C., Srivastava G.C. — *Mycopathologia*, 1978, 63, № 2, p. 121-126.
9. Srivastava R.C. — *Mycosen*, 1980, 23, № 8, p. 462-469.
10. Srivastava G.C., Srivastava R.C. — *Fertilizer Technology*, 1977, 14, № 1-2, p. 140-141.
11. Srivastava G.C., Mekrani S. — *Geobios*, 1980, 7, № 4, p. 151-153.
12. Willoughby L.G. — *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 1977, 69, № 1, p. 133-135.
13. Willoughby L.G. — *J. Fish Diseases*, 1978, 1, № 1, p. 51-67.
14. Hatai K., Egusa S., Nomura T. — *Fish Pathol.*, 1977, 11, № 4, p. 201-206.
15. Hatai K., Egusa S., Awakura T. — *Ibid.*, 12, № 2, p. 105-110.
16. Papatheodorou Th. — *Bull. franç. piscicult.*, 1981-1982, 54, № 283, p. 96-101.
17. Srivastava G.C., Srivastava R.C. — *Curr. Sci. (India)*, 1977, 46, № 4, p. 118.
18. Эргашев Э., Уразаев А. — Растительноядные рыбы в промышленном рыбоводстве: Тезисы докладов 9-го Всес. совещ., Ташкент, 1980. Ташкент, 1980, с. 202-203.
19. Srivastava R.C. — *Mycosen*, 1979, 22, № 1, p. 25-29.
20. Olah J., Farkas J. — *Aquaculture*, 1978, 13, № 3, p. 273-288.
21. Richards R.H., Pickering A.D. — *J. Fish Diseases*, 1978, 1, № 1, p. 69-82.
22. Hatai K. — *Fish Pathol.*, 1980, 14, № 4, p. 199-206.
23. Srivastava G.C., Srivastava R.C. — *Mycopathologia*, 1977, 61, № 1, p. 61-62.
24. Srivastava R.C. — *Ibid.*, 1978, 64, № 1, p. 49-51.
25. Srivastava R.C. — *Mycosen*, 1978, 21, № 10, p. 355-358.
26. Srivastava R.C. — *Mycopathologia*, 1979, 68, № 3, p. 167-169.
27. Sati S.C., Mer G.S., Khulbe R.D. — *Mycosen*, 1982, 25, № 11, p. 638-640.
28. Meng H.J. *Diss. Dokt. Naturwiss. Eidgenöss. Techn. Hochsch. Zuerich*, 1980.
29. Murphy T.M. — *J. Fish Diseases*, 1981, 4, № 5, p. 387-395.
29. Pickering A.D., Duston J. — *J. Fish Biol.*, 1983, 23, № 2, p. 163-175.
30. Richards R.H., Pickering A.D. — *J. Fish Diseases*, 1979, 2, № 3, p. 197-206.
31. Copland J.W., Willoughby L.G. — *Ibid.*, 1982, 5, № 5, p. 421-428.

32. Sohnle P.G., Chusid M.J. — *Comp. Biochem. and Physiol.*, 1983, A74, № 1, p. 71–76.
33. Srivastava G.C., Srivastava R.C. — *Mycopathologia*, 1978, 64, № 3, p. 169–171.
34. Alderman D.J. — *J. Fish Diseases*, 1982, 5, № 2, p. 113–123.
35. Bailey T.A. — *Progr. Fish-Cult.*, 1983, 45, № 1, p. 24–27.
36. Bailey T.A. — *J. Fish Diseases*, 1983, 6, № 2, p. 91–100.
37. Srivastava R.C., Srivastava G.C. — *J. Indian Bot. Soc.*, 1978, 57, № 1, p. 109–114.
38. Srivastava R.C. — *Mh. Vet.-Med.*, 1980, 35, p. 267–269.
39. Rodney L., Balhork P.O. Пат. 4331660, США, опубли. 25.05.1982, МКИ А 01 N 59/16.
40. Taylor S.G., Baily J.E. — *Progr. Fish-Cult.*, 1979, 41, № 4, p. 181–183.
41. Prabhuji S.K., Srivastava G.C., Rizvi S.J.H., Mathur S.N. — *Experientia*, 1983, 39, № 2, p. 177–179.
42. Эргашев Э., Киргизбаева Х.М. — Систематика и экология водорослей и грибов Сред. Азии, Ташкент, 1981, с. 64–69.
43. Зубкова Л.А., Ларцева Л.В., Степанова Г.А. — *Рыб. х-во*, 1984, № 5, с. 41–42.
44. Астахова Т.В., Зубкова Л.А., Степанова Г.А., Ларцева Л.В. — Там же, 1983, № 2, с. 40.
45. Schäperclaus W. *Fischkrankheiten*. Akademie-Verlag, Berlin, 1979, S. 520–525.
46. Chien C.-H., Miyazaki T., Kubota S.S. — *Fish Pathol.*, 1979, 13, № 4, p. 179–182.
47. Svobodova Z., Tesarcik J. — *Bul. VURH Vodňany*, 1974, 10, № 2, p. 21–24.
48. Hatai K., Hirose H., Hioki M. — *Fish Pathol.*, 1979, 13, № 4, p. 205–210.
49. Grenel E., Entzeroth R., Schilling H.U. — *Tierärztliche Prax.*, 1979, 7, № 1, S. 97–100.
50. Amlacher E. — In: *Taschenbuch der Fischkrankheiten*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1981, S. 243–260.
51. Machado G.J., Eiras J.C., Marques D. — *Publ. Inst. Zool. Dr. A. Nobre*, 1982, № 167, 11 pp.
52. Chauvier G. — *Ann. parasitol. hum. et comp.*, 1979, 54, № 1, p. 105–111.
53. Pneumaticos G. — *Bull. Hellen. Vet. Med. Soc.*, 1977, 28, № 3, p. 157–163.
54. Ruggieri G.D., Nigrelli R.T., Powles P.M., Garnett D.G. — *Zoologica (USA)*, 1970, 55, № 3, p. 57–62.

55. Tashiro F., Morikawa S., Arai M. — *Fish Pathol.*, 1977, 11, № 4, p. 1213–1215.
56. Miyazaki T., Kubota S.S., Tashiro F. — *Ibid.*, p. 183–186.
57. Hatai K., Egusa S. — *Ibid.*, p. 187–193.
58. Engiom K., Hastein T., Poppe T.T., Stenwig H. — *Nor. veterinærnaertidsskr.*, 1983, 95, № 11, p. 703–706.
59. Blazer V.S., Wolke R.E. — *J. Fish Diseases*, 1979, 2, № 2, p. 145–152.
60. Ellis A.E., Waddell I.F., Minter D.W. — *Ibid.*, 1983, 6, № 6, p. 511–523.
61. Марченко А.М. — *Рыб. х-во*, 1978, № 5, с. 34–37.
62. Марченко А.М. — *Сб. науч. тр. ВНИИ пруд. рыб. х-ва*, 1979, 23, с. 56–67.
63. Jo Y., Hatai K., Ochiai T., Miyazaki T. et al. — *Fish Pathol.*, 1977, 12, № 1, p. 63–66.
64. Hatai K., Egusa S., Takahashi S., Ooe K. — *Ibid.*, — № 2, p. 129–133.
65. Hatai K., Egusa S. — *Ibid.*, 1978, 13, № 2, p. 85–89.
66. Марченко А.М. — *Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ, сер. Рыбохоз. использование внутр. водоемов*, 1982, вып. 10, с. 12–14.
67. Курасова В.В., Костин В.В., Малиновская Л.С. *Методы исследования в ветеринарной микологии*. М., Колос, 1971, с. 285–286.
68. Zaleski S., Daczowska E., Glowczewska C. — *Med. wet.*, 1979, 35, № 3, p. 158–160.
69. Борowiecka E. — *Gosp. rybna*, 1981, 33, № 9, p. 12–13.
70. Паршута В.В., Ракитский А.С. — *Искусственное кормление лососевых при интенсивных методах воспроизводства*. Рига, 1984, с. 194–196.
71. Roberts R.J. — *Fish Farm. Int.*, 1984, 11, № 4, p. 5–6.
72. Svobodova Z., Piskač A., Havlikova J., Groch L. — *Zivoč. výroba*, 1982, 27, № 11, p. 811–820.
73. Brünger A., Greuel E. — *Tierärztliche Prax.*, 1983, 11, № 3, S. 399–404.
74. Tareen I.U. — *J. Fish Biol.*, 1980, 16, № 2, p. 145–148.
75. Błasiola G.C., Turnier J.C. — *J. Fish Diseases*, 1979, 2, № 2, p. 161–163.
76. Gentles J.C., Bond P.M. — *Sabouraudia*, 1977, 15, № 2, p. 133–139.
77. Smith C.G. — *Mycopathologia*, 1980, 71, № 2, p. 95–101.
78. Szerow D. — *Gosp. rybna*, 1980, 32, № 5, p. 7–8.
79. Molnar K., Boros G. — *J. Fish Diseases*, 1981, 4, № 4, p. 325–334.

ПРОБЛЕМЫ ПАТОЛОГИИ И ИММУНИТЕТА
ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЯХ РЫБ

Л. И. Грищенко, Н. И. Рудиков

ВВЕДЕНИЕ

Основные закономерности патологии при болезнях рыб раскрыты и сформулированы известными ихтиопатологами W. Schäperclaus [1,2], А.К.Шербиной [3], S.F.Snieszko [4,5] и другими. Однако, по сравнению с теплокровными животными инфекционная патология рыб как пойкилотермных животных изучена еще недостаточно, о чем свидетельствует наличие многих спорных вопросов в отношении этиологии, патогенеза, диагностики и мер борьбы с рядом инфекционных болезней.

Проблема выяснения особенностей течения и характера проявления заразных болезней стала особенно актуальной в условиях антропогенного загрязнения водоемов и индустриального рыбоводства. В результате этого на организм рыб нередко воздействует целый комплекс факторов: неблагоприятных условий среды, токсических веществ, вирусных и бактериальных агентов, паразитических организмов, а также многочисленных биотехнологических приемов, связанных с интенсификацией рыб разведения. Понимание механизма влияния различного сочетания перечисленных факторов как на возбудителей, так и на организм выращиваемых объектов служит важной предпосылкой успешной профилактики и борьбы с заразными болезнями рыб.

В последние годы как в нашей стране, так и за рубежом в этом направлении достигнуты определенные успехи: получены новые факты об изменчивости и свойствах возбудителей инфекций, о защитно-приспособительных реакциях организма рыб, взаимодействии возбудителя — организма — среды, влиянии экологических факторов на эпизоотический процесс. Решение названных проблем общей патологии позволило усовершенствовать методы диагностики и профилактики ряда болезней, а также разработать средства специфической профилактики и терапии.

1. Условия возникновения инфекций у рыб

Известное положение эпизоотологии о том, что для возникновения болезни одного контакта между восприимчивым животным и возбудителем недостаточно, относится и к инфекционным заболеваниям рыб. Инфекционная болезнь развивается при сочетанном взаимодействии, по крайней мере, трех факторов: возбудителя, восприимчивого животного и условий внутренней и внешней среды [5,6]. В подтверждение этому приводим важное заключение W. Schäperclaus, что возникновение паразитозов рыб (в широком смысле слова) зависит не от одной причины, наличия патогенного возбудителя, а в одинаковой мере от защитных механизмов и физиологического состояния организма, многочисленных факторов окружающей среды [2].

Защитные силы организма определяются генотипом, конституцией и кондицией рыб. Температура, освещенность, химический состав воды и другие факторы среды могут влиять положительно или отрицательно как на рыб, так и на возбудителей. В последнее время особая роль в возникновении инфекций рыб отводится неблагоприятным условиям среды, вызывающим снижение общей резистентности их организма при интенсивном ведении хозяйства. К ним относятся переуплотненные посадки, травматизация рыб, резкие перепады температур, нарушение газового и гидрохимического режима, субтоксические уровни ядовитых веществ и т.д. [7].

В то же время подчеркивается главенствующее значение в этой цепи патогенных (облигатных) и факультативных микроорганизмов. Так, в рыбохозяйственных водоемах постоянно присутствуют условно патогенные бактерии рода *Aeromonas*, *Pseudomonas*, миксобактерии, грибы и другие. При определенных условиях они могут переходить из авирулентных форм в вирулентные. Делаются выводы, что на фоне ослабления организма рыб под влиянием неблагоприятных факторов среды многие условно-патогенные микроорганизмы становятся первичнопатогенными. К ним отнесены *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. shigelloides*, *Flexibacter columnaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Edwardsiella*, *Pasteurella*, *Streptococcus*, *Clostridium botulinum* [8]. Выявлены вирулентные штаммы, вызывающие, например, аэромоноз и псевдомоноз карповых [9,10].

В группу облигатных возбудителей, вызывающих инфекционные болезни независимо от состояния организма рыб, относятся *Renibacterium salmoninarum*, вирусы инфекционного некроза поджелудочной железы, инфекционного некроза гемопоэтической

ткани, вирусной геморрагической септицемии форели [7].

Особенность эпизоотического процесса при болезнях рыб состоит в том, что рыбы связаны с водой значительно теснее, чем наземные животные с воздухом. Водная среда создает для микроорганизмов благоприятные условия жизнедеятельности. Они практически не подвержены опасности высыхания, легче и более длительно могут существовать вне рыбы, образуя резервуары инфекции, а также легче передаются от одной рыбы к другой контактными, оральными, перкутанными и другими путями. Возбудители инфекционных болезней приспособились не только к условиям среды, но и к биологическим свойствам рыб как холоднокровных животных. Температурный оптимум, при котором они могут размножаться и вызывать заболевание колеблется в широких пределах, примерно от 10 до 25°C [2].

С другой стороны, рыбы, обладая мягким уязвимым жаберным аппаратом, легче подвергаются травматизации и другим воздействиям, способствующим внедрению возбудителя в организм. Размножение внедрившихся в организм рыб патогенных микробов вызывает, как и у других позвоночных животных, комплекс патологических и защитно-приспособительных реакций, являющихся ответом на специфическое патогенное действие микроба. Реакции выражаются в биохимических, морфологических и функциональных изменениях, в иммунологическом ответе и направлены на сохранение постоянства внутренней среды организма (гомеостаза).

Патогенетическую сущность инфекционной болезни отражает инфекционный процесс, который включает динамическое взаимодействие возбудителя и защитно-приспособительных механизмов организма. Выраженность патологических и защитно-приспособительных реакций зависит от вирулентности возбудителя, напряженности защитных сил организма и воздействия на них экологических факторов. В зависимости от этого патогенное действие возбудителя (инфекция) может выражаться в форме инфекционной болезни разной тяжести, микробоносительства или иммунизирующей субинфекции. Поэтому дифференцированный подход к формам инфекции дает возможность правильно вести диагностику инфекционных болезней и максимально выявлять зараженных животных в стаде [2,6].

Инфекционная болезнь, в свою очередь, может протекать сверхостро, подостро или хронически и проявляться в типичной, атипичной (абортивной или стертой) и бессимптомной (латентной, скрытой, инаппарантной) формах. Кроме того, в зависимости от локализации и путей распространения возбу-

теля она может приобретать очаговый или генерализованный характер, проявляясь в форме септицемии (бактериемии или вирусемии), пиемии или септикопиемии [2,6].

Таким образом, возникновение инфекционной болезни у рыб является результатом сложного взаимодействия между возбудителем, защитными силами организма и факторами окружающей среды. Многие закономерности инфекционного и эпизоотического процесса при заразных болезнях рыб раскрыты далеко не полностью и активно обсуждаются в литературе последних лет [11].

2. Защитные системы и реакции рыб при инфекциях

Против экзогенных агентов вообще и возбудителей инфекций, в частности, у рыб достаточно хорошо развиты как неспецифические механизмы общей резистентности, так и специфические факторы защиты (иммунитет). Но у них более активны неспецифические факторы резистентности, чем иммунные реакции [2], хотя рыбы вместе с птицами и млекопитающими, находясь на высшем уровне иммуноэволюции, обладают интегрированным клеточным и гуморальным иммунитетом [12].

Как в более ранних, так и в последних работах [2,13,14, 15] подчеркивается важное значение таких неспецифических анатомо-физиологических механизмов у рыб, как:

- 1) эпителиальные и эндотелиальные покровы органов;
- 2) слизь на коже, жабрах и в желудочно-кишечном тракте;
- 3) высокая регенерационная способность тканей;
- 4) более устойчивые к вредным воздействиям ядерные эритроциты;
- 5) большое содержание лейкоцитов в крови, ее лимфоидный характер;
- 6) широкий круг клеточных элементов, обладающих фагоцитирующими свойствами;
- 7) выраженная активность тканевых жидкостей;
- 8) зависимость от внешней среды температура тела, препятствующая неограниченному росту инфекционных агентов рыб и теплокровных животных.

Внешние покровы органов вместе с выделяющейся слизью выполняют не только механическую защиту. Слизь рыб содержит муциноподобное вещество, глико- и нуклеопро-теиды [16, 17], лизоцим, бактериолизины, комплемент, пропердин, С-реактивный белок, секреторные иммуноглобулины [16], а - аце-

тил и п - гликолил-нейраминовою кислоту [2], что обеспечивает ее нейтрализующие, бактерицидные и фунгицидные свойства. Считают, что более частое поражение плавников рыб объясняется меньшим количеством в них слизистых клеток [2]. При длительном воздействии экзогенных раздражителей (токсинов, высокой pH и др.) наступает истощение секреции слизи, что приводит к повреждению кожи и открывает ворота инфекции. Травмирование кожи способствует заражению рыб фурункулезом [19], седловидной болезнью лососевых [20] и многими другими заболеваниями. Регенерация и заживление ран на коже хорошо выражены и ускоряются с повышением температуры [2].

Клеточные и гуморальные факторы защиты включают толерантность, фагоцитоз и продуцирование различных антимикробных веществ. Хотя толерантность зависит от многих факторов, замечено, что ядерные эритроциты более резистентны к бактериальному гемолизу (*Aeromonas punctata*, *Vibrio anguillarum*), чем эритроциты собаки и человека [2].

В фагоцитозе у рыб участвуют разнообразные клетки ретикулярно-лимфоидных органов, рыхлой соединительной ткани, лейкоциты, эндотелиальных и мезотелиальных покровов. Проведен ряд специальных исследований по определению мест фиксации антигенов в органах и тканях рыб. После внутривенной инъекции бычьего сывороточного альбумина (БСА) антиген откладывался в наибольшем количестве в селезенке и почках камбалы. В селезенке он был связан больше с ретикулярными волокнами и откладывался в мелано-макрофагальных центрах. В почках антиген находился внутриклеточно в свободных макрофагах и клетках РЭС [21].

Высокая фагоцитарная активность клеток РЭС селезенки, почек и других органов доказана также в отношении бактериальных антигенов [21,22,23,24]. Экспериментальными исследованиями на разных видах рыб показано, что в элиминации чужеродных веществ (фенолфталеина, нейтральрота, красок, коллоидного углерода и др.) участвуют ретикулярные и синусоидные клетки почек, селезенки и печени, лимфоидная ткань желудочно-кишечного тракта, фибробластические элементы рыхлой клетчатки [2,13], образуя макрофагальную систему рыб.

Корпускулярные субстанции разной природы способны фагоцитировать моноциты и частично эозинофилы крови [2]. Лимфоциты проявляют фагоцитарную активность специфически в присутствии гуморальных антител у иммунизированных животных. Фагоцитарные свойства нейтрофилов изучены очень слабо,

доказательства в этом плане имеется очень мало, хотя они проявляют реакцию на внедрение возбудителя. Так, при заражении угрей бактериями установлено заметное увеличение в периферической крови количества нейтрофилов, среди которых преобладали клетки с максимальным накоплением гликогена, что указывает на их активную защитную функцию [25]. Предполагается, что они осуществляют бактерицидное действие экстракционно, выделяя лизоцим и другие вещества [13,14].

Не ясно, имеются ли у рыб типичные тучные клетки, хотя у них найдены ПАС-положительные зернистые элементы, содержащие гистамин. Установлено [13], что инъекция рыбам экзотоксина *A. salmonicida* вызывала расширение сосудов в кишечной стенке с накоплением в ней эозинофильных гранулоцитов. Предполагают, что последние сходны с тучными клетками млекопитающих, так как содержание гистамина в кишечной стенке было высоким. Выделение гистамина в кишечной стенке рыб рассматривается как защитная реакция на патогенного возбудителя в просвете кишечника, проявляющаяся сокращением гладкой мускулатуры с целью опорожнения кишечника.

Защитная функция приписывается также меланин-содержащим клеткам рыб, расположенным в тканях и органах, особенно в почках, селезенке и печени. Предполагается, что они связаны с пероксидазо-медиаторной бактерицидной системой, обеспечивающей адсорбцию свободных радикалов, и способствуют таким образом снижению повреждения тканей хозяина [13].

Описано, что фагоцитарными свойствами обладают и тромбоциты рыб. Но не доказано наличие у них внутриклеточного переваривания чужеродных веществ [14].

Большинством авторов высказывается мнение, что фагоцитоз у рыб осуществляется мононуклеарными фагоцитами, но у некоторых видов в процесс вовлекаются также гранулоциты.

Фагоцитоз макрофагами перитонеального экссудата индуцируется фагоцитарной активностью лейкоцитов, а также антителами и комплементом [26]. Однако, опсоническая активность антител и комплемента оспаривается. На макрофагах рыб также не выявлены рецепторы Fc и C-3, на основании чего делается вывод, что у рыб они функционируют более примитивно, чем у млекопитающих [13].

В слизи, крови и тканевых жидкостях рыб имеется большинство гуморальных факторов естественной резистентности, свойственных позвоночным животным. Это лизоцим, комплемент пропердин, интерферон, хитиназа, преципитины, лизины, неиммунные глобулины, C-реактивный белок, трансферины и другие

[2,13,14,27]. Но они имеют ряд существенных особенностей и изучены недостаточно.

Лизоцим – фермент с мурамидазной активностью выявлен в сыворотке, слизи и фагоцитах многих видов рыб, имеет одинаковую молекулярную массу с лизоцимом млекопитающих и отличается от него по аминокислотному составу. Лизоцимная активность у разных видов и даже внутри одного вида рыб значительно колеблется. Замечено, что у хищных рыб (щука, окунь) его активность выше, чем у всеядных. Лизоцим особенно активен против грамположительных бактерий, в комбинации с другими факторами может лизировать и грамотрицательные микроорганизмы [13].

Комплемент рыб, как и млекопитающих животных, структурно представляет собой комплекс проэнзимов, выполняющих как специфическую, так и неспецифическую защиту организма. Он обладает основными свойствами комплемента млекопитающих, но температурный предел его активности у рыб значительно шире (от 0–4°C и выше). Инактивация его происходит при более низких температурах – от 40 до 56°C у разных видов рыб [4]. При изучении взаимозаменяемости комплемента разных видов рыб и млекопитающих в реакции гемолитических бляшек установлено, что он обладает выраженной видоспецифичностью. Поэтому рекомендуется использовать в реакциях комплемент того же вида рыб или же близкородственного [14,26]. О путях и компонентах активации комплемента рыб имеется мало данных. Наиболее подробно они изучены у акулы, в комплементарной системе которой выявлено 6 компонентов, в том числе найдены компоненты – аналоги C-8 и C-9 млекопитающих [14].

Наличие интерферона у рыб доказано как *in vivo*, так и *in vitro* при изучении механизма защиты в организме радужной форели и в культуре клеток FHM против вирусов ВГС, ИНПЖ и инфекционного некроза гемопоэтической ткани [14]. Причем синтез интерферона предшествует образованию специфических антител.

Сывороточный компонент со свойствами C-реактивного белка описан у камбалы, трески и некоторых других рыб. В присутствии ионов кальция он преципитировал с фосфорилэфирными группами, имеющимися в клеточных стенках многих микроорганизмов. Методом иммуноэлектрофореза показана его принадлежность к α -глобулинам, обнаружено сходство C-реактивного белка акулы и камбал с таковым человека по молекулярной массе и электронно-микроскопической структуре.

Хотя его защитная роль недостаточно ясна, предполагают, что он участвует в функционировании комплементарной системы [13,14].

Трансферрины у рыб изучены очень слабо, но известно, что они имеются в сыворотке всех изученных позвоночных животных. Изучение трансферрина рыб может оказаться полезным для раскрытия механизма защиты рыб от инфекционных агентов [13].

Очень мало сведений имеется о природе естественных агглютининов, лизинов и других родственных с ними гуморальных факторов резистентности рыб. Естественные гемагглютинины выявлены в сыворотке миноги, угря, радужной форели, изучены некоторые свойства этих белков. Отмечают, что в сыворотке рыб наряду с соответствующими аналогами млекопитающих животных имеются гемагглютинины, сходные с агглютинами беспозвоночных [14]. Высказывается предположение, что образование естественных антител у рыб индуцируется перекрестно реагирующими антигенами окружающей среды [13].

Таким образом, структурная организация и биологическое значение гуморальных факторов естественной резистентности рыб раскрыты не полностью. Однако, несомненно то, что они обеспечивают интегральную бактерицидную и вирицидную функцию сыворотки крови, тканевых жидкостей рыб. Поэтому определение показателя бактерицидной активности сыворотки крови имеет важное практическое значение для оценки уровня резистентности организма рыб [28,29].

Наконец, важнейшим фактором защиты рыб от инфекций является зависимость от внешней среды температура тела, которая может активизировать или подавлять развитие возбудителей болезней и защитно-приспособительных реакций организма. Наиболее выраженный инфекционный процесс развивается у них при адекватной для возбудителя и хозяина температуре воды, а следовательно и тела рыб. Так, бактериальные болезни карпов ярче проявляются при температурах выше 20°C , а форели — от 12 до 20°C . Вирусные инфекции протекают остро при более низких температурах 10 – 15°C . Отчасти этим объясняется видоспецифичность возбудителей болезней холодноводных и тепловодных рыб, а также резистентность рыб к инфекциям теплокровных животных [2,30–32]. Механизм развития, закономерности течения инфекционного процесса, а также характер клинико-анатомического проявления заразных болезней у рыб во многом сходны с теплокровными животными. В ответ на внедрение инфекционных агентов в организме рыб развивают-

ся как неспецифические, так и специфические (иммунные) реакции. Но у рыб по сравнению с млекопитающими они менее совершенны, имеют ряд существенных отличий и еще недостаточно поняты.

Многочисленная литература показывает, что у рыб неспецифические реакции проявляются комплексом биохимических, физиологических и морфологических изменений в органах и тканях и выражаются на уровне целостного организма в виде общего адаптационного синдрома по Селье [7]. Характер изменения нервной регуляции при инфекционных болезнях рыб практически не изучен, хотя по аналогии с высшими животными нельзя отвергать тот факт, что инфекционные агенты вызывают ответные защитные реакции нервной системы и оказывают патогенное действие на организм рыб путем раздражения чувствительных нервных окончаний в тканях пораженной области [2].

В начальной стадии инфекционного процесса (внедрение возбудителя, инкубационный период) активируются, главным образом, постоянные факторы неспецифической защиты: кожные и слизистые барьеры, фагоцитоз, гуморальные (лизозим, комплемент, нормальные антитела, интерферон и др.) и физиологические (температура, обмен веществ) факторы, генотипическая и фенотипическая реактивность клеток и тканей. Затем включаются такие неспецифические реакции, как воспаление, изменение морфологического и химического состава крови и формируется специфический иммунный ответ [6].

Воспалительная реакция у рыб изучена слабо [13], но она во многом сходна с внешними признаками проявления воспаления у млекопитающих. Она сильно зависит от температуры и имеет ряд особенностей. Наиболее четко у рыб проявляется покраснение и опухание тканей. Местная и общая температурная реакция выражена слабо из-за утечки тепла в воду, ощущение боли у них мало дифференцировано [2].

Изучению механизма воспаления у рыб посвящены в основном работы W. Schäperclaus и некоторых ранних авторов. Протекая как местная защитно-приспособительная реакция, воспаление у рыб характеризуется сочетанием трех типов патологических процессов: альтерации, расстройства кровообращения (гиперемии и эксудации) и пролиферации клеток местных тканей. Степень альтеративных повреждений тканей зависит от вирулентности возбудителя, тяжести сосудистых расстройств и напряженности защитных сил организма. Образование язв на коже связывают с гиперэргической реакцией, сходной

с феноменом Артюса, но экспериментально это не доказано [13].

Характерным для рыб является то, что сосудистая реакция у них часто сопровождается массивной транссудацией, эксудацией и эритродиapedезом. Поэтому многие острые инфекционные болезни рыб проявляются покраснениями кожи, обширными отеками рыхлой клетчатки и водянкой. Специальными свето- и электронно-микроскопическими исследованиями проницаемости сосудов рыб показано, что эксудация происходит через разрывы межклеточных контактов эндотелия сосудов [33].

На основании этого делается вывод, что рыбам свойственно в основном сочетание серозного и геморрагического воспаления. Фибринозное воспаление встречается гораздо реже, например, при воспалении плавательного пузыря [2].

В то время как у млекопитающих острое воспаление часто сопровождается эмиграцией гранулоцитов, у рыб этот феномен наблюдается гораздо реже, что связано с их недостаточным количеством и слабой фагоцитарной активностью зернистых лейкоцитов рыб [2,13]. Предполагают, что нейтрофилы рыб выделяют в очаге воспаления пероксиды, участвующие, по видимому, в окислении и обезвреживании токсических продуктов [13]. Основную массу клеточного инфильтрата составляют полиморфные мононуклеарные клетки местных тканей и эмигранты: макрофаги, лимфоидные элементы и т.д. К тому же, обычные гноеродные бактерии не вызывают у рыб воспалительной реакции, а патогенные для них бактерии выделяют лейкоцитолизирующие продукты. Поэтому гнойному воспалению в патологии рыб придается меньшее значение [2].

Обязательным компонентом воспаления у рыб является пролиферация соединительнотканых элементов, протекающая так же, как и у других животных. Защитная роль пролиферативной реакции рыб, по-видимому, особенно велика, поскольку клетки пролиферата в большой массе обнаруживаются в очаге воспаления, формируют грануляционную ткань в язвах, участвуют в инкапсуляции некротических участков, как например, при ихтиофнозе, туберкулезе и других заболеваниях рыб [2, 34].

Хотя воспаление протекает как местный процесс, оно вызывает общую реакцию организма: изменение состава крови, нарушение функций сердечно-сосудистой, эндокринной и других систем, а также индуцирует образование специфического иммунитета. Исход воспаления может быть различным в зависимости от степени регенерации поврежденного участка и ликвидации патогенного начала.

Интенсивность и характер воспалительной реакции не одинаковы при бактериальных и вирусных инфекциях рыб, что связано с различиями факторов патогенности бактерий и вирусов. Патогенное действие бактерий, обусловленное инвазивностью и токсигенностью, характеризуется сочетанием нескольких видов эксудативного воспаления: серозного, серозно-гемморагического, фибринозного или гнойного [35,36,37,38,39]. Поскольку вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами, патология при вирусных инфекциях начинается с некролиза клеток поражаемых органов и завершается воздействием на организм продуктов их распада [40]. Поэтому воспалительная реакция при вирусных инфекциях рыб отличается ярко выраженным альтеративным компонентом [41,42,43,44,45,46]. Следовательно, изучение механизма развития и характера проявления воспалительной реакции имеет важное значение для раскрытия особенностей инфекционного процесса у рыб и клинико-анатомической диагностики инфекционных заболеваний.

В последние годы заметно активизировались исследования по изучению иммунитета при инфекционных и инвазионных болезнях рыб. При этом основное внимание уделялось раскрытию иммунологических механизмов, влиянию на образование иммунитета различных факторов среды, а также поиску эффективных способов вакцинации и иммунодиагностики болезней [47,48,49,50].

В отношении механизмов специфического иммунитета у рыб выявлены как общие закономерности, так и специфические особенности. Показано, что функцию распознавания и восприятия микробов в организме рыб осуществляют лимфоциты, снабженные гетерогенными антигенреагирующими рецепторами, которые способны, по-видимому, трансформироваться в антигенразрушающие клетки [47]. Этот процесс тесно связан с появлением в месте локализации антигенов эффекторных клеток: макрофагов, плазмобластов, плазматических клеток и гранулоцитов [47,48], которые переводят его в иммуногенную форму. Радиоуглеродным методом установлено, что большая часть введенного в организм рыб антигена задерживается в почках и селезенке. После поглощения иммунной системой продукты распада бактериального антигена выводятся из организма не полностью, а их остатки включаются в белковый обмен и участвуют в синтезе антител [48,51].

Полагают, что появлению антител в крови рыб предшествует дифференцировка лимфоидных клеток селезенки, головной и средней почки в сторону плазмобластов. Морфологически это

проявляется пролиферацией клеток ретикулоэндотелиальной системы, гиперплазией гемопоэтической ткани и сопровождается увеличением объема селезенки и почек [2,14,47]. К сожалению, гистогенез иммунных реакций в лимфоидных органах рыб подробно не изучен.

По реакции на митогены подтверждено наличие у рыб Т- и В-лимфоцитов. При этом показано, что в почках карпа лимфоциты представляют собой смешанную популяцию, а в селезенке – однородную, состоящую из аналогов В-клеток, тогда как в пронефросе радужной форели встречаются только аналоги В-лимфоцитов, а в селезенке – Т- и В-клеток [52]. Иными словами, характерный для высших позвоночных процесс трансформации иммунокомпетентных клеток в антителообразующие возникает у низших позвоночных, в том числе у рыб.

Под влиянием специфической антигенной информации в лимфоидных органах рыб (почках, селезенке, тимусе) синтезируются антитела, относящиеся к классу IgM –подобных иммуноглобулинов млекопитающих [2,12,48]. Существование у рыб других классов иммуноглобулинов не показано.

Динамика антителогенеза у рыб в принципе сходна с образованием антител у теплокровных, за исключением того, что она в большей степени зависит от температуры. Подавляющее число исследователей считают, что максимальное продуцирование антител происходит в период наибольшей физиологической активности рыб, то есть при температуре, оптимальной для роста и развития данного вида [48,50]. При пониженных температурах (менее 10°C) иммунный ответ подавляется. Однако замечено, что у карпов, иммунизированных и содержавшихся в течение 7 нед. при оптимальной температуре, синтез антител не прекращается, а их титры продолжали нарастать после снижения температуры до 10°C [12]. Этот факт очень важен для выбора сроков вакцинации рыб.

Напряженность иммунитета повышается под влиянием иммунизации, причем 2–3 – кратная вакцинация рыб более эффективна, чем однократная. В результате этого возрастает активность как неспецифических факторов (особенно завершенности фагоцитоза), так и нарастают в крови титры антител, за счет чего повышается бактерицидная активность сыворотки крови [48].

3. Влияние факторов окружающей среды на восприимчивость рыб к инфекциям

На современном этапе развития рыбоводства серьезное значение в инфекционной патологии рыб отводится экологическим факторам, отрицательная роль которых в возникновении заразных болезней становится все более ощутимой. Подчеркнута необходимость использования экологического принципа в профилактике и борьбе с инфекционными болезнями рыб [53].

Главное внимание обращают на такие факторы, как температура, гидрохимический режим, загрязнение, а также плотность посадки рыб, травматизация и рыбоводные операции [7]. Обсуждаются вопросы влияния окружающей среды на морфо-физиологическое состояние организма, обмен веществ, иммунологическую реактивность, а также патогенетические взаимосвязи микро- и макроорганизма в загрязненной среде.

Экспериментальные и производственные наблюдения последних лет показали, что неблагоприятные колебания параметров среды обитания воздействуют на рыб как стресс-факторы, вызывающие в их организме комплекс морфо-функциональных и биохимических изменений, сходных с проявлением общего адаптационного синдрома у млекопитающих [7]. Для моделирования стресса у рыб часто применяют резкое снижение уровня воды, повышенную солевую нагрузку, изменение температуры и pH, инъекции кортикостероидов и т.д.

В результате этого определены основные показатели для оценки стрессового состояния рыб [54,55]. В частности, выявлено повышение в крови кортикостероидов и норадреналина [56], глюкозы и лактата [2,54,57], изменение концентрации электролитов Na^+ , K^+ и Ca^{++} [58]. Метаболические сдвиги сопровождаются также дистрофическими изменениями в надпочечных железах, причем чем длительнее и тяжелее стресс, тем выраженнее стресс-реакция организма [2].

Под воздействием солевой обработки, низких значений pH воды (4,5–4,7; 6,0) установлено снижение индексов, инволюция иммунокомпетентных органов и клеток, ответственных за распознавание и разрушение антигена, многообразные изменения гемагглютининов [2,59,60].

В зависимости от температуры воды и кормности водоемов выявлен значительный размах (от 1,5 до 8 кратностей) между высокими и низкими средними значениями бактерицидной активности сыворотки крови. Причем низкие температуры и ограни-

ченная кормовая база способствовали снижению иммунологической реактивности [61,62]. При дефиците в рационе α -токоферола снижалась активность Т- и В-лимфоцитов, содержание гемагглютининов, гемолизина, бактериальных агглютининов, а также фагоцитарный индекс перитонеальных макрофагов в ответ на введение культуры *Yersinia ruckeri* [63]. Наконец, инъекции гидрокортизона с адреналином (в дозах 2,5 мг и 0,2 мг соответственно) подавляли функции клеточных и гуморальных факторов иммунитета: фагоцитоза, антителогенеза и бактерицидной активности сыворотки крови [64]. Эти опыты вносят определенную ясность в понимание механизма действия стресс-факторов на иммунологическую реактивность рыб.

Если относить к стресс-факторам химические загрязнители водоемов, что расценивается разными авторами неоднозначно, то в их действии имеет место более широкий спектр неспецифических изменений, в том числе гормональных, и избирательное влияние на определенные системы организма. Поэтому снижение устойчивости рыб к болезням в условиях загрязнения чаще объясняют нарушением общефизиологических защитных реакций, или иначе, физиолого-биохимических механизмов устойчивости организма [7,49,65,66,67].

Появились немногочисленные работы, доказывающие иммунодепрессивное действие на рыб антибиотиков и токсических веществ. Путем трансплантации чешуек и определения количества розеткообразующих клеток выявлено иммунодепрессивное действие окситетрациклина при пероральном и внутрибрюшном введении [68]. При воздействии сублетальных концентраций бихромата натрия (0,5 мг/л хрома, экспозиция 14 дней) у молоди кижуча отмечали снижение титров агглютининов и повышенную чувствительность к заражению *V. anguillarum* [69]. Снижение антителообразования отмечено под влиянием фенола, тяжелых металлов, полихлоркамфена [7,49].

На основе комплексного анализа санитарно-токсикологического состояния естественных водоемов и эпизоотической ситуации сделан ряд выводов об этиопатогенетической связи между уровнем загрязнения и степенью проявления инфекций [7,67]. В условиях повышенного загрязнения возможны обострения латентных вирусных инфекций, возникновение неоплазий и гиперплазий, болезней, обусловленных факультативными микроорганизмами или смешанной этиологии. В качестве основных причин называют повышение микробной обсеменяемости воды бактериями из родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio* и других, нарушение барьерной функции кожных покровов, обусловленное действи-

ем химических агентов и факультативной микрофлоры, ослабление резистентности организма рыб. К наиболее частым признакам патологии в этих случаях относят эрозии плавников, язвы, нарушение целостности чешуйного покрова, аномалии скелета, их рекомендуют использовать для оценки степени ухудшения качества воды [67].

Подобная картина нередко наблюдается в условиях аквакультуры. При выращивании чавычи в морских садках наиболее часто встречаются эрозии и разволокнение плавников, осложняющиеся вспышками вибриоза [70]. Среди культивируемых морских тепловодных рыб (лещ, кефаль, окунь) установлена септицемия, вызванная *Vibrio alginolyticus* (*V. parahaemolyticus*), которая связана с повреждением рыб во время различных рыбоводных манипуляций. Она проявляется отеками, кровоизлияниями и язвами на различных участках тела. Параллельно с этим выявлено поражение морского леща и кефали микробактериозом [71].

Ухудшение гидрохимического режима (снижение кислорода, повышение углекислоты, аммиака, нитритов и нитратов) при интенсивном выращивании канальных сомов способствовало вспышке инфекции, вызванной *Aeromonas hydrophila* [72]. В экспериментах после внутрибрюшинного введения сублетальной дозы *A. hydrophila* (2×10^7 клеток) канальных сомов в течение 144 ч выдерживали в стрессовых условиях: в воде с низким содержанием кислорода (1,5–1,7 мг/л), высокой концентрацией аммиака (1–1,2 мг/л) и углекислоты (4–10 мг/л) или с различным сочетанием этих веществ. Микробная обсемененность и гибель рыб в этих условиях была разной. В туловищной почке сомов, содержавшихся в неблагоприятных условиях, общее количество бактерий было намного больше, чем в почках контрольных: *A. hydrophila* выделяли от 67% подопытных и 9% контрольных рыб. Во внутренних органах заболевших сомов обнаруживали патогистологические изменения [73].

В результате травмирования во время облова и длительного содержания большеголовов (*Aristichthys nobilis*) при температуре 10° отмечено септическое поражение рыб *Pseudomonas fluorescens* [74]. Экспериментальное заражение путем внесения изолятов в воду или при внутрибрюшинном введении показало, что выделенный штамм является высокопатогенным для карпов и большеголовов. При внутрибрюшинной инъекции псевдомонад в дозе $2 \cdot 10^7$ – $2 \cdot 10^4$ бактерий на рыбу погибли все большеголовы через 7–9 дней, в дозе 2×10^3 погибло 40% рыб. После внесения бактерий в ванну отход составил

30% в течение 14–17 дней. Сделано заключение, что возникновению септицемии, вызванной *P. fluorescens*, способствовал стресс при низкой температуре.

В специальных опытах изучали влияние органического загрязнения на возникновение бактериальной инфекции у трех видов рыб *Cyprinus carpio*, *Labeo rohita*, *Cirrhina mrigala* [75]. В цементные бассейны (13,5 × 6 × 1,22 м) вносили навоз из скотного двора и птичий навоз как отдельно, так и в разных сочетаниях в количествах 8,0, 16,0, 24,0 и 32 т/га в год. В начале опыта вносили половину общей дозы, а затем ежемесячно добавляли по 0,1 второй половины. В бассейны сажали испытуемых рыб из расчета 12500 экз/га. Без дополнительного кормления рыб содержали 387 дней. Заболевание наблюдали через 149 дней только в бассейнах с высоким содержанием навоза (24,0–34,0 т/га) независимо от типа и его сочетания, когда карпы достигли средней массы 60–150 г. Причем *C. mrigala* не поражалась. В бассейнах с 24,0 т/га навоза заболеваемость составила 35–40%, а с 34,0 т/га – 65–85%. У больных рыб обнаруживали покраснения на коже и образование язв. Из язв и крови выделена бактерия *A. punctata*. Оно осложнялось также сепролегниозом. Авторы считают, что для обозначения этой болезни лучше употреблять термин "гемосептицемия", а не "эритродерматит", "язвенная болезнь" и т.п. Поскольку заболевание внешне сходно с эритродерматитом карпа, вызываемым *A. salmonicida* subsp. *achromogenes*, они считают, что оба этих вида *Aeromonas* могут вызывать гемосептицемию при сочетании подходящих экологических условий (органическом загрязнении).

Повышенное органическое загрязнение водоемов в хозяйствах интенсивного типа способствует появлению вибриоза и фурункулеза радужной форели [76] и миксобактериоза лососевых [77].

Воздействие субтоксических концентраций меди повышало чувствительность радужной форели к искусственному заражению *Yersinia ruckeri* [78] и *V. anguillarum* [79], а канальных сомов возбудителем ихтиофтириоза [80]. В этих случаях заражающая доза микробов для опытных рыб была в 2 раза ниже, чем контрольных.

Язвенный синдром у трески, возбудителем которого считается иридовирус, связывают с первичным воздействием условий среды. Обследование более 25 тыс. экз. трески в датских прибрежных районах Балтики показало, что язвенный синдром чаще бывает в загрязненных (20% рыб), чем в незагрязнен-

ных водах (менее 1% рыб). Поражаются главным образом 1,5–2,5-летние рыбы, у которых вначале появляются многочисленные папулы и везикулы на боках тела, а в дальнейшем развиваются эрозии и язвы. Течение болезни часто осложняется поражением *V. anguillarum* [81].

Высказывается мнение, что некоторые кожные новообразования рыб имеют химико-бактериальную или химико-вирусную этиологию. При этом химическое воздействие на кожу рассматривается как стресс-фактор, вызывающий нарушение барьерной функции кожи и способствующий активизации латентных и факультативных микроорганизмов [67]. В этом плане особый интерес представляют папилломатозные изменения кожи камбалы и трески [82], чукучана и коричневого сомика [83], атлантических лососей и радужной форели [84, 85], сома [86], а также лимфоист камбал [87].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принципиальные положения общей патологии рыб о механизмах инфекционного процесса, об этиопатогенетических связях возбудителя, хозяина и факторов внешней среды являются фундаментом для раскрытия сущности болезни, закономерностей ее возникновения и течения, а также разработки мер профилактики и борьбы. Нельзя не заметить, что основные механизмы взаимодействия микро- и макроорганизма, иммунологической реактивности и возникновения инфекционных болезней у рыб сходны с теплокровными животными. Но свойственные рыбам биологические и экологические особенности накладывают свой отпечаток на все стороны их течения и проявления.

Как видно из приведенного обзора, ряд аспектов патологии рыб раскрыт достаточно полно, другие – требуют углубленного экспериментального разрешения, а некоторые вопросы практически не изучены. Большую ценность представляют выводы о том, что возникновению многих инфекционных болезней рыб способствует отрицательное влияние различных антропогенных факторов, связанных с биотехникой рыборазведения, напряженным гидрохимическим режимом и загрязнением водоемов. Характер реакции рыб на инфекционные агенты определяется адаптивными способностями их организма, из которых важнейшее значение имеет состояние неспецифических механизмов общей резистентности и иммунологической реактивности.

ти. Углубленное изучение последних позволило разработать научно-обоснованную систему общих и специфических мероприятий по профилактике и борьбе с инфекционными болезнями рыб в нашей стране и за рубежом. Причем экологическому принципу и ветеринарно-санитарным мероприятиям в них отводится преобладающая роль.

В то же время недостаточная изученность ряда вопросов патологии рыб и эпизоотологии болезней в условиях антропогенного воздействия ставит перед наукой и практикой решение следующих проблем:

1. Выявить взаимосвязи между параметрами экологических факторов и характером изменения иммунологической реактивности;

2. Разработать систему иммунологических и общепатологических критериев оценки последствий воздействия экологических факторов на организм рыб применительно к инфекционной патологии;

3. Расширить разработку и внедрение в практику средств специфической профилактики и надежных способов диагностики инфекционных болезней;

4. Усовершенствовать нормативы по качеству воды, технологии интенсивного рыбоводства и кормления рыб.

ЛИТЕРАТУРА

1. Schäperclaus W. Fischkrankheiten. Akademie Verlag, Berlin, 1954, 708S.
2. Schäperclaus W. Fischkrankheiten. Akademie Verlag, Berlin, 1979, Teil I, S. 3-37.
3. Шербина А.К. Болезни рыб. Киев, Урожай, 1973, с. 10-28.
4. Snieszko S.F. — In: Fish nutrition/Ed. J.E. Halver. Academic Press, N.Y. — London, 1972, p. 404-439.
5. Snieszko S.F. — Beitr. Fischpathol. und — toxikol., Stuttgart — N. Y., 1980, p. 1-17.
6. Эпизоотология и инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. Под ред. А.А.Конопаткина. М., Колос, 1984, с. 3-54.
7. Ведемейер Г.А., Мейер Ф.П., Смит Л. Стресс и болезни рыб. Пер. с англ. М., Легкая и пищев. пром-ть, 1981, 128. с.
8. Obradovic J. — Ribar Jugosl., 1983, 38, № 1, p. 20-22.
9. Лобунцов К.А., Рудиков Н.И. — Проблемы инф. патологии сельскохозяй. жив-х. Тр. Всес. ин-та эксперим. вет., 1979, 49, с. 146-153.

10. Мочалкин В.П. — Бюл. Всес. ин-та эксперим. вет., 1981, вып. 41, с. 13–14.
11. Fish, pathogens and environment in european polyculture/Ed. Oláh J. Budapest; Akad. Kiadó, 1984, p.p. 265.
12. Купер Э. Сравнительная иммунология. М., Мир, 1980, 422 с.
13. Ellis A.E. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines, Proc. Symp., Leetown, W. Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 337–352.
14. Rijkers G.T. — Develop. and Comp. Immunol., 1982, 6, № 1, p. 1–13.
15. Zapata A. — Bull. Inst. Pasteur, 1983, 81, № 2, p. 165–186.
16. Gona O. — Anat. Rec., 1979, 193, № 3, p. 552.
17. Ускова Е.Т., Чайковская А.В., Давиденко С.И. — Вопр. ихтиол., 1980, 20, № 2, с. 326–333.
18. Lobb C.J., Clem L.W. — Fish Biol.: Serodiagn. and Vaccines, Proc. Symp., Leetown, W. Va., 1981. Basel e.a., 1981, p. 329.
19. Sakai D.K. — Sci. Repts Hokkaido Fish. Hatchery, 1979, № 34, p. 1–6.
20. Morrison C., Cornick J., Shum G., Zwieker B. — J. Fish Diseases, 1981, 4, № 3, p. 243–258.
21. Ellis A.E. — J. Fish Diseases, 1980, 3, № 5, p. 413–426.
22. Fulop G.M.I., McMillan D.B. — J. Morphol., 1984, 179, № 2, p. 175–195.
23. Трофимова Л.В., Микряков В.Р., Романенко В.И. — Гидробиол. ж., 1978, 14, № 4, с. 85–89.
24. Secombes C.J. a.o. — J. Fish Diseases, 1980, 3, № 5, p. 399–412.
25. Nagamura J., Wakabayashi H. — Fish Pathol., 1983, 17, № 4, p. 269–280.
26. Sakai D.K. — J. Fish Diseases, 1984, 7, № 1, p. 29–38.
27. Ingram G.A. — J. Fish Biol., 1980, 16, № 1, p. 23–60.
28. Микряков В.Р., Силкин Н.Ф., Силкина Н.И. — В кн.: Физиол. и паразитол. пресноводн. организмов. Л.; 1979, с. 125–133.
29. Микряков В.Р., Силкина Н.И. — Ветеринария, 1980, № 4, с. 32–34.
30. Pietrzak B. — Pol. Ecol. Stud. (PRL), 1979, 5, № 3, p. 86–94.
31. Dorson M., Torchy C. — J. Fish Diseases, 1981, 4, № 3, p. 213–221.
32. Ferguson H.W. — Ibid., № 2, p. 175–177.
33. Suzuki Y., Hibiya T. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1981, 47, № 3, p. 323–327.
34. Van Duijn I.C. — J. Small Anim. Pract., 1981, 22, № 6, p. 391–411.

35. Ransom D.P., Rohovec J.S., Fryer J.L. — J. Fish Diseases, 1984, 7, № 2, p. 107–115.
36. Razavilar V., Gharagozlou M.J., Tabatabayi A.H., Djalali B. — J. Vet. Fac. Univ. Tehran, 1981, 37, № 3, p. 11–22.
37. Taniguchi M. — Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1982, 48, № 12, p. 1717–1720.
38. Kimura H., Kusuda R. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 6, p. 471–478.
39. Roberts M.S. — J. Fish Diseases, 1983, 6, № 6, p. 551–552.
40. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Ветеринарная вирусология. М., Колос, 1984, с. 161–172.
41. Yasutake W.T. — Fish Pathol., 1979, 14, № 2, p. 59–64.
42. Meier W., Pfister K. — Schweiz. Arch. Tierheilk., 1981, 123, № 1, S. 37–49.
43. Наконечная М.Н., Руденко А.П., Жибловская М.И. — Освоение тепл. вод энерг. объектов для интенс. рыбовод. Республ. науч. конф. Киев, 1980, Киев, 1981, с. 423–425.
44. Swanson R.N., Carlisle J.C., Gillespie J.H. — J. Fish Diseases, 1982, 5, № 6, p. 449–460.
45. Ferguson H.W., Moccia R.D., Down N.E. — Vet. Pathol., 1982, 19, № 6, p. 638–645.
46. Архангельский Д.С., Полякова О.В. — Тр. Ин-та микробиол. и вирусол. АН КазССР, 1982, 28, с. 111–134.
47. Микряков В.Р., Балабанова Л.В. — В. кн.: Физиология и паразитология пресноводных организмов. Л., 1979, с. 105–124.
48. Микряков В.Р. — Биол. внутр. вод, 1981, № 51, с. 63–65.
49. Вихман А.А. — Успехи соврем. биол., 1983, 95, № 1, с. 130–137.
50. Вихман А.А. — В кн.: Биологические основы рыбоводства: паразиты и болезни рыб. М., Наука, 1984, с. 125–134.
51. Микряков В.Р., Балабанова Л.В. — Биол. внутр. вод, 1984, № 62, с. 48–52.
52. Микряков В.Р., Степанова В.М. — Тез. докл. Всес. совещ. "Организация мероприятий по борьбе с инф. бол. рыб". М., 1981, с. 47–49.
53. Канаев А.И. — Тр. Всес. ин-та эксперим. вет., 1982, 55, с. 44–51.
54. Reichenbach-Klinke H.-H. — Fisch und Umschau, 1979, № 7, S. 39–46.
55. Peters G. — Fisch und Umwelt, 1979, № 7, S. 25–32.
56. Wahlqvist J. a.o. — J. Comp. Physiol., 1980, B137, № 2, p. 145–150.
57. Кляшторин Л.Б., Смирнов Б.П. — Науч. докл. высш. школы. Биол. науки, 1981, № 5, с. 58–61.

58. Мартемьянов В.И., Запруднова Р.А. – Там же, 1982, № 10, с. 44–49.
59. Вихман А.А., Поддубная А.В. – Сб. науч. тр. ВНИИ пруд. рыб. х-ва, 1981, 31, с. 233–248.
60. Микряков В.Р., Виноградов Г.А., Клерман А.К., Силкина Н.И., Силкин Н.Ф. – Физиол. и биохим. аспекты токсикол. пресно-вод. животных. Ин-т биол. внутр. вод АН СССР. Борок, 1984, с. 229–241. (Рукопись деп. в ВИНТИ 26.03.1984 г., № 1637–84).
61. Микряков В.Р., Баканов А.И. – Биол. внутр. вод, 1982, № 56, с. 43–46.
62. Agius C., Roberts R.J. – J. Fish Biol., 1981, 19, № 2, p. 168–169.
63. Blazer V.S., Wolke R.E. – Aquaculture, 1984, 37, № 1, p. 1–9.
64. Микряков В.Р., Аскинази О.Я. – В кн.: Реакция гидробионтов на загрязнения. М., Наука, 1983, с. 207–222.
65. Флеров Б.А. – Там же, с. 30–34.
66. Сорвачев К.Ф. – В кн.: Теоретич. проблемы водной токсикологии. Норма и патология. М., Наука, 1983, с. 121–131.
67. Sindermann C.J. – Rapp. et proc. –verb. reun. Cons. int. explor. mer, 1983, 182, p. 37–43.
68. Rijkers G.T., Teunissen A.G., van Oosterom R., van Muiswinkel W.B. – Aquaculture, 1980, 19, № 2, p. 177–189.
69. Sugatt R.H. – Arch. Environ. Contam. and Toxicol., 1980, 9, № 2, p. 207–216.
70. Moring J.R. – Progr. Fish-Cult., 1982, 44, № 4, p. 189–191.
71. Paperna T. – Rapp. et proc. –verb. reun. Cons. perm. int. explor. mer, 1983, 182, p. 44–48.
72. Plumb J.A. – Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult. Budapest, 1984, p. 189–199.
73. Walters G.R., Plumb J.A. – J. Fish Biol., 1980, 17, № 2, p. 177–185.
74. Petrinec Z., Naglic T., Matasin Z., Fijan N. – Ribar Jugosl., 1983, 38, № 3, p. 58.
75. Toor H.S., Sehgal H.S., Sehdev R.S. – Aquaculture, 1983, 35, № 4, p. 277–282.
76. Steinhagen P., Bahrs P. – Tierärztl. Prax., 1984, 12, № 1, S. 93–103.
77. Просьяная В.В., Наконечная М.Г., Висманис К.О., Глагольцева Т.П. – Всес. совещ. Современ. биотехн. прудов. рыб-вод., 1980, Тез. докл. М., 1980, с. 205–207.
78. Knittel M.D. – J. Fish Diseases, 1981, 4, № 1, p. 33–40.

79. Baker R.J., Knittel M.D., Fryer J.L. — Ibid., 1983, 6, № 3, p. 267–275.
80. Ewing M.S., Ewing S.A., Zimmer M.A. — Bull. Environ. Contam. and Toxicol., 1982, 28, № 6, p. 674–681.
81. Jensen N.J. — Rapp. et proc.-verb. réum. Cons. perm. int. explor. mer, 1983, 182, p. 58–64.
82. Jensen N.J., Bloch B. — Nord. Veterinarmed., 1980, 32, № 3–4, p. 173–175.
83. Black J.J., Holmes M., Dymerski P.P., Zapisek W.F. — Hydrocarbons and Halogenated Hydrocarbons Aquat. Environ. Proc. Int. Symp. Anal. Hydrocarbons and Halogenated Aquatic Environ. Ontario, 1978. N.Y. — London, 1980, p. 525–528.
84. Roberts R.J., Bullock A.M. — J. Fish Diseases, 1979, 2, № 1, p. 75–77.
85. Bylund G., Valkonen E.T., Niemela E. — Ibid., 1980, 3, № 6, p. 525–528.
86. Obradovic J., Mañan B., Sabočanec R. — Ibid., 1983, 6, № 1, p. 83–84.
87. Боговский С. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1982, 31, № 4, с. 310–312.
-

СОДЕРЖАНИЕ

(соответствует рубрике 34.27 Рубрикатора ГАСНТИ)

Коромыслов Г.Ф. ПРЕДИСЛОВИЕ.	3
Рудиков Н.И. ВИРУСЫ И ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ РЫБ.	
Введение.	6
1. Вирусная болезнь канального сома.	17
2. Герпесвирусная болезнь лососевых.	18
3. Герпесвирус стизостедии.	22
4. Лимфоцистис.	23
5. Жаберный некроз карпа.	26
6. Вирусный некроз эритроцитов.	30
7. Вирусная геморрагическая септицемия.	32
8. Инфекционный некроз гемопоэтической ткани.	43
9. Весенняя вирусная болезнь. Весенняя виремия карпов.	49
10. Рабдовирусная болезнь мальков щуки.	56
11. Рабдовирус окуня.	58
12. Вирусы и вирусные болезни угрей.	60
12.1. Болезнь "цветная капуста" (стоматопапиллома- тоз).	60
12.2. Вирусы культивируемых угрей.	61
13. Инфекционный некроз поджелудочной железы.	64
14. Вирус нотемигонуса.	72
15. Другие вирусы и микроорганизмы.	73
16. Профилактика и меры борьбы с вирусными болезн- ми рыб.	76
Литература.	78

Рудиков Н.И., Грищенко Л.И. МИКРОФЛОРА И БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БОЛЕЗНИ РЫБ

Введение.	93
1. Аэромонады и аэромонозы.	94
1.1. Эритродерматит карпов.	99
1.2. Аэромоноз (краснуха) разных видов рыб.	102
1.3. Аэромоноз лососевых.	106
2. Псевдомонозы.	113
2.1. Септический псевдомоноз рыб.	114
2.2. Краснопятнистая болезнь угрей.	115
3. Вибриоз.	116
4. Миксобактериозы.	121

5. Стрептококкозы.	126
6. Кишечная болезнь "красный рот".	129
7. Эдвардсиеллезы.	132
7.1. Кишечная септицемия канального сома.	132
7.2. Эдвардсиеллез угрей.	134
7.3. Эдвардсиеллез у других видов рыб.	136
8. Бактериальная почечная болезнь.	137
9. Туберкулез рыб.	142
10. Псевдотуберкулез.	144
11. Другие бактериозы рыб.	146
Литература.	148

Грищенко Л.И. МИКОЗЫ, МИКОТОКСИКОЗЫ И АЛЬГОВЫЕ БОЛЕЗНИ РЫБ

Введение.	161
1. Микозы рыб.	161
1.1. Классификация микозов рыб.	162
1.2. Сапролегниоз (дерматомикоз).	163
1.3. Микозы жаберного аппарата.	172
1.3.1. Бранхиомикоз.	172
1.3.2. Дермоцистидиоз.	173
1.4. Внутренние (глубокие) микозы.	174
1.4.1. Ихтиофноз.	174
1.4.2. Эксофиаламикоз.	179
1.4.3. Микотический грануломатоз.	181
2. Микотоксиозы.	183
3. Альговые болезни (альгозы).	185
Литература.	186

Грищенко Л.И., Рудников Н.И. ПРОБЛЕМЫ ПАТОЛОГИИ И ИММУНИТЕТА ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЯХ РЫБ

Введение.	190
1. Условия возникновения инфекций у рыб.	191
2. Защитные системы и реакции рыб при инфекциях.	193
3. Влияние факторов окружающей среды на восприимчивость рыб к инфекциям.	202
Заключение.	206
Литература.	207

Технический редактор Л.А.Киселева Корректор А.В.Антонова

Сдано в набор 25.09.85	Подписано в печать 12.12.85
Формат 60×90 1/16	Печать офсетная
Усл.печ.л. 13,5	Усл.кр.-отт. 13,75
Тир. 750 экз.	Зак. 7159
	Цена 1р.50к.

Адрес редакции: 125219, Москва, А-219, Балтийская ул., 14
Тел. 155-42-12

Производственно-издательский комбинат ВИНТИ
140010, Люберцы 10, Московской обл.,
Октябрьский проспект, 403

УДК 619:616.9-022.6:597.5

Рудиков Н. И. Вирусы и вирусные болезни рыб. – Итоги науки и техники. ВИНТИ. Ихтиология, 1985, 1, с. 6–92

Обзор посвящен вирусным болезням рыб. Представлены материалы о биохимической структуре и биологии вирусов. Проанализированы новые данные по симптоматике, патоморфологии и патогенезу, а также по идентификации вирусов и диагностике вирусных болезней рыб. Подробно изложены болезни, имеющие важное экономическое значение в рыбоводстве (вирусная геморрагическая септицемия радужной форели, инфекционные некрозы поджелудочной железы и гемопоэтической ткани лососевых, весенняя вирусная болезнь рыб и др.). Рассмотрены также материалы о редко регистрируемых вирусах рыб и близких к ним микроорганизмах других классов. Библ. 313.

УДК 619:616.9-022.7

Рудиков Н. И., Грищенко Л. И. Микрофлора и бактериальные болезни рыб. – Итоги науки и техники. ВИНТИ. Ихтиология, 1985, 1, с. 93–160

Обобщена литература последних лет по основным бактериальным болезням рыб. Приведены результаты исследований по таксономии и классификации патогенных для рыб бактерий, симптоматологии и эпизоотологии болезней, диагностике, лечению и мерам борьбы с ними. Большое внимание уделено таким опасным бактериям, как аэромонады, псевдомонады, вибрионы и миксобактерии. Систематизированы материалы о бактериозах, наблюдавшихся в последнее время среди рыб в разных странах, но не получивших широкого распространения. Библ. 279.

УДК 619:616.992.28.1 597

Грищенко Л. И. Микозы, микотоксикозы и альгальные болезни рыб. – Итоги науки и техники. ВИНТИ. Ихтиология, 1985, 1, с. 161–189

Представлен обзор литературы по наиболее распространенным микозам рыб, приведена современная классификация микозов и грибов, выделенных от рыб. Обобщены публикации, посвященные дерматомикозам, глубоким микозам (ихтиофеноз, группа эксофиаломикоза, микотический грануломатоз), микотоксикозам, а также микозам жабр и альгальным болезням рыб. Максимально полно освещены новые данные о возбудителях,

симптоматике, патоморфологии и патогенезе грибных болезней. Большое внимание уделено профилактике и мерам борьбы с названными заболеваниями. Библ. 79.

УДК 619:576.8.097.3.1 597

Грищенко Л. И., Рудиков Н. И. Проблемы патологии и иммунитета при инфекционных болезнях рыб. — Итоги науки и техники. ВИНТИ. Ихтиология, 1985, 1, с. 190–211

Критически проанализирована литература по основным вопросам инфекционной патологии рыб: механизмы инфекционного процесса, этиопатогенетические связи в цепи возбудитель—хозяин—среда, закономерности возникновения и течения инфекционных болезней. Рассмотрено состояние изученности неспецифических факторов естественной резистентности и иммунологической реактивности организма рыб, характера их изменений под влиянием некоторых антропогенных воздействий и роли в инфекционной патологии. Подчеркнута необходимость расширения исследований по общей патологии и иммунобиологии рыб с целью разработки научно обоснованных методов специфической диагностики, профилактики и борьбы с инфекционными болезнями рыб в условиях интенсивного рыбоводства. Библ. 87.