

УДК 579.62:619.57.083.1

ПРОФИЛАКТИКА ВИБРИОЗА ЛОСОСЕВЫХ РЫБ ПРИ ПРОМЫШЛЕННОМ ВЫРАЩИВАНИИ

Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А., Гулюкин М.И. ■ ФГБНУ ВИЭВ, г. Москва



Введение. Вибриоз является массовым бактериальным заболеванием рыб и гидробионтов в морской и солоноватой воде, которое впервые было выявлено у угрей в 1909 году [13]. Это заболевание встречается у многих видов костистых рыб, моллюсков, ракообразных за рубежом и в России. Возбудителем вибриоза рыб является *Vibrio (Listonella) anguillarum*. Заболевание особенно интенсивно развивается в теплое время года, достигая максимума при температуре 19-20°C [2]. Вибриоз в период эпизоотии может привести к 90 % гибели культивируемых лососевых рыб.

Изучение рода *Vibrio*, в частности вида *Vibrio (Listonella) anguillarum* необходимо для современной ихтиопатологии. Данный представитель рода повсеместно распространен в солоноватых и морских водах, при этом вызывает у культивируемых рыб острое инфекционное заболевание – вибриоз, – которое характеризуется септициемией, поражением тканей почек, печени, желудочно-кишечного тракта, нарушением водно-солевого обмена и интоксикацией. Известно, что молодь форели радужной и атлантического лосося наиболее восприимчива к заражению *V. anguillarum*, клинические признаки заболевания проявляются через 30-40 суток после завоза невакцинированной рыбы в морскую воду при температуре 15-20°C, и за короткое время болезнь переходит в острую форму с массовой гибелью. При отсутствии терапии потери достигают 90%. Антибиотикотерапия не позволяет провести 100% деконтаминацию организма рыбы от вибрионов, болезнь переходит в хроническую форму, происходят многократные повторные вспышки [1, 3].

Во всем мире экономический ущерб от вибриоза исчисляется миллионами долларов, лечебные мероприятия не позволяют охватить все поголовье рыбы, тем самым возбудитель персистирует в стаде, а болезнь циклически переходит из острой стадии в хроническую и наоборот. Увеличение объемов производства, и, следовательно, плотностей посадки рыбы и количества хозяйств в локальных акваториях приводит к росту прессинга патогенных микроорганизмов, впоследствии вызывающих эпизоотии. Поэтому, на сегодняшний день мировая практика борьбы с вибриозом заключается в поголовной вакцинопрофилактике и соблюдении ветеринарно-санитарных правил при выращивании.

Существует несколько методов вакцинации рыб: индивидуальные инъекции, погружение в ванны и введение орально. В литературе подробнейшим образом описан ход работы и приводятся результаты исследований ученых [12, 14, 15, 16] в сравнительном аспекте.

Вакцинация купанием применяется для водорастворимых вакцин – время обработки, в зависимости от степени разбавления, составляет от 20 мин до нескольких часов. Это наименее трудоемкий метод, не вызывающий стресс у рыб, однако требующий большого расхода вакцины. Иммерсионный гиперосмотический способ (ванны) эффективен для групповой обработки и рекомендован для ревакцинации при перевозках, при этом по иммуногенности уступает инъекционным формам. Ранее, около 20-ти лет назад, во ВНИРО была разработана инактивированная вакцина для иммерсионного применения [10, 11], но в практике она так и не применялась в связи с указанными выше недостатками (трудоемкость применения, большой расход препарата) и общей незрелостью, неготовностью российской аквакультуры того периода к проведению подобных работ.

В настоящее время многочисленными исследованиями установлено, что наиболее эффективным способом вакцинации является внутривибриозный метод введения. Применение анестезирующих препаратов и использование специального оборудования – ручного, полуавтоматического и автоматического – позволяет проводить обработку большого количества рыб в единицу времени и экономно расходовать биопрепарат.

Таким образом, в России сейчас особенно актуальна разработка профилактических средств путем создания вакцинных препаратов из эндемичных штаммов. Данная работа начата нами в 2011 году, в этот период были отобраны штаммы, изучены некоторые биологические свойства вибрионов [8], в частности антигенные и вирулентные, необходимые для конструирования вакцинного препарата [4], подобраны адъюванты, образующие стойкие эмульсии с водным вибриозным антигеном, а также изучены иммуногенные свойства полученных биопрепаратов [5, 6, 7, 9].

В 2016 году изготовлены малые серии вакцины из бактериона (для ванн), в комбинации с масляными и адсорбционными адью-

вантами (для инъекций). Целью работы стало изучение в сравнении иммуногенности, реактогенности и безвредности полученных биопрепаратов. В данной статье представлены результаты исследования выполненного в промышленных условиях.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследования использовали радужную форель около 13 см длиной (средний вес 30 г) и 5 см (средний вес 8 г). Работы проводили в пресной воде в установке замкнутого водоснабжения (УЗВ) в стеклопластиковых емкостях на коммерческой ферме. Температура воды в течение всего эксперимента составляла 13-15°C.

Вакцина из штаммов вибрионов *Listonella (Vibrio) anguillarum* – «ВБФ», «Бок07», «АФЗ/4» – с охарактеризованными ранее биологическими свойствами.

Адъюванты: гидроокись алюминия (ГОА), Montanide ISA 70.

Вакцинировали двумя способами: инъекцией по 0.1 см³ внутривибриозно под общей анестезией (в индивидуальной дозе 1×10⁸ м.кл.) и купанием в растворе вакцины с предварительным гиперосмосом (рабочая концентрация 5×10⁸ м.кл.мл).

Иммуногенность опытных серий вакцины изучали в реакции агглютинации.

Результаты исследований. Рыб для исследования разделили на пять групп: 3 опытных и 2 контрольных, содержащихся в том же цехе, с которыми не проводили никаких манипуляций (табл. 1).

Таблица 1

Схема вакцинации радужной форели против вибриоза

Тип вакцины	Группа № 1 Вакцинация купанием (иммерсия)	Группа № 2 Вакцинация инъекцией, адъювант гидроокись алюминия (ГОА)	Группа № 3 Вакцинация инъекцией, адъювант Montanide ISA 70	Группа № 4 – контроль I	Группа № 5 – контроль II
Размер/вес рыбы (см/г)	5/8	13/30	13/30	5/8	13/30
Количество (шт.)	100 000	130 000	120 000	100 000	10 000

Смертность во время проведения вакцинации указанными способами и в течение 30 дней наблюдения после была от минимальной (единичные особи) в группе № 1 до нескольких сотен рыб в день вакцинации и на следующий – в группе № 3. Это связано с тем, что масляные адъюванты переносятся рыбами тяжелее, за счет развития местной аллергической реакции. Однако, через три дня после проведения работ количество погибших рыб не превышало средних нормативных значений по цеху, и даже меньше – так как при вакцинации инъекцией проводилась дополнительная бонитировка – удалялись особи с отклонениями от физиологической нормы (имеющие искривления тела, отсутствующие плавники, жаберные крышки, истощенные) и кондиции, несоответствующие своему возрасту.

Дальнейшие исследования показали различие в титрах вырабатываемых агглютинирующих антител (ТАА) по сравнению с контрольными группами. Максимальный титр агглютинирующих антител наблюдали на 30-50-й день после введения. При этом наиболее высокие значения ТАА были в группе рыб, вакцинированной препаратом с ISA 70 (группа № 3), составили на 10-й и 20-й день – 1:64-1:128, на 30-50-й день – 1:512 – 1:1024. В группах рыб, иммунизированных вакциной на основе ГОА (группа № 2), средний ТАА на 10-20-й день был на уровне 1:64-1:128, а на 30-50-й день – 1:512. Уровень антител сохранялся на протяжении 9-ти месяцев наблюдения.

При иммерсионной иммунизации отмечали хорошую переносимость, безвредность и простоту процедуры. Выработка титров поствакцинальных антител к 20-м суткам соответствовала значениям, как и при инъекционном введении – 1:64-1:128, но в динамике не превышала пределов 1:256. Показатели ТАА к 9-му месяцу составили 1:32-1:64.

Выводы. Недостаточная эффективность введения бактерины без использования адьюванта была показана нами, а ранее многими исследователями, но и применение наиболее распространенных из существующих сейчас вариантов: GOA и ISA 70 имеет достоинства и недостатки.

Установлено, что одноразовая иммунизация радужной форели препаратом на основе ISA 70 несколько выше и прототрачивает гибель до 97% рыб, а препаратом на основе GOA – 90%.

Однако, существенным недостатком использования вакцин на основе масляных адьювантов является местная воспалительная реакция, приводящая к повышенной смертности рыб в начальный период применения вакцины, а также образованию соединительной ткани между стенками внутренних органов и брюшной полости (фибрин). В месте инъекции образуется черный пигмент (гемосидерин).

Следовательно, для промышленного производства необходимо выбирать компоненты, сочетающие достойный уровень защиты, но не вызывающие побочных эффектов с экономическими последствиями, такие как GOA.

Список литературы

1. Безгачина Т.В. Проблемы здоровья рыб при культивировании их в садках // Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2014. № 12. С. 22-26.
2. Висманис К.О. Профилактика и лечение рыб при аквакультуре // Рыбное хозяйство. 1980. № 2. – С. 37–39.
3. Гулюкин М.И., Завьялова Е.А., Дрошнев А.Е., Колмыцев С.А. // Ветеринария. 2011. № 8. С. 3-7.
4. Дрошнев А.Е. Конструирование вакцинного препарата против вибриоза лососевых рыб / Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко. 2013. Т. 77. С. 234-238.
5. Дрошнев А.Е. Разработка современного метода защиты здоровья лососевых рыб – вакцины против вибриоза / Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А., Богданова П.Д., Булина К.Ю. // Инновации в сельском хозяйстве. 2016. № 5 (20). С. 408-413.
6. Дрошнев А.Е. Современная вакцинопрофилактика радужной форели против вибриоза / Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А., Гулюкин М.И., Хлунов О.В. // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. 2012. № 1. С. 31-33.
7. Дрошнев А.Е. Разработка новых и совершенствование применяемых методов профилактики вибриоза лососевых рыб / Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А., Хлунов О.В. // В сборнике: Аграрная наука и образование в условиях становления инновационной экономики материалы международной научно-практической конференции. Оренбург. 2012. С. 341-345.
8. Дрошнев А.Е. Видовое разнообразие галофильных вибрионов Белого моря и их эпизоотическая значимость / Дрошнев А.Е., Завьялова Е.А., Хлунов О.В. // В сборнике: Актуальные проблемы инфекционных болезней молодая и других возрастных групп сельскохозяйственных животных, рыб и пчел. Международная научно-практическая конференция, посвященная 50-летию со дня основания лаборатории лейкозоологии, лаборатории ихтиопатологии и отдела охраны полезной энтомофауны. 2011. С. 78-80.
9. Завьялова Е.А. Специфическая профилактика вибриоза лососевых рыб: необходимость и перспективы / Завьялова Е.А., Дрошнев А.Е. // В сборнике: Материалы VI Международного ветеринарного конгресса 2016. С. 356-357.
10. Патент на изобретение № 2284830 от 10.10.2006 г. Приоритет от 18.04.2005 г. «Способ получения инактивированной вакцины против вибриоза рыб». РФ Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам. – Москва. – С. 6.
11. Патент на изобретение № 2284831 от 10.10.2006 г. Приоритет от 18.04.2005 г. «Инактивированная вакцина против вибриоза рыб». РФ Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам. – Москва. – С. 4.
12. Antira R., Gould R. & Amend D. F. *Vibrio anguillarum* vaccination of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) by direct and hyperosmotic immersion// JFD. 1980. 3:161-165
13. Bergman A.M. Die rote Beulen krank heitdes Hals // Ber. Kgl. Bayer. Biolog. Versuch. – Munchen. 1909. – P. 10-54.
14. Egidius E. C. & Andersen K. / Bath-immunization – a practical and non-stressing method of vaccinating sea farmed rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson against vibriosis// JFD. 1979. 2:405-410
15. Horne M. T., Tatler M., McDerment S., Agius C. / Vaccination of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at low temperatures and the long-term persistence of protection// JFD. 1982. 5:343-345
16. Ototake M., Moore J.D., Nakanishi T. / Prolonged Immersion Improves the Effectiveness of Dilute *Vibrio* Vaccine for Rainbow Trout// JFP. 1999. 34(3). 151-154

Резюме. Вибриоз – массовое бактериальное заболевание рыб, моллюсков, ракообразных выращиваемых в солоноватой и морской воде. Увеличение объемов производства, и, следовательно, плотностей посадки рыбы и количества хозяйств в локальных акваториях приводит к росту прессинга патогенных микроорганизмов, вследствие вызывающих эпизоотии. Эти же факторы не позволяют провести 100% антибиотикотерапию всего поголовья, что приводит к развитию антибиотикорезистентности циркулирующих штаммов и повторным вспышкам эпизоотии. Мировая практика борьбы с вибриозом заключается в поголовной вакцинопрофилактике, для которой сейчас разработано много способов: купание, оральное применение, инъекции. В настоящей статье представлены материалы о применении вакцины против вибриоза на коммерческой ферме. В серии производственных опытов установлено, введение бактерины в виде ванн недостаточно эффективно; применение адьюванта повышает защиту до 90-97% поголовья рыб, но имеет недостатки, например, масляный адьювант тяжело переносится рыбами за счет местной воспалительной реакции. Для про-

мышленного производства рекомендовано выбирать компоненты, сочетающие достойный уровень защиты, но не вызывающий побочных эффектов, такие как гидроокись алюминия.

Ключевые слова: болезни лососевых рыб, радужная форель, вибриоз, вибрион, вакцина, вирулентность, иммуногенность, биопрепарат, антигенная активность, адьювант.

Сведения об авторах:

Дрошнев Алексей Евгеньевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ихтиопатологии ФГБНУ ВИЭВ имени Я.Р. Коваленко: 109428, г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1; тел.: 8-495-995-88-61; e-mail: asdf1961@mail.ru.

Гулюкин Михаил Иванович, доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, директор ФГБНУ ВИЭВ имени Я.Р. Коваленко: 109428, г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1; тел.: 8-495-970-03-69; e-mail: admin@viev.ru.

Ответственный за переписку с редакцией: Завьялова Елена Александровна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией ихтиопатологии ФГБНУ ВИЭВ имени Я.Р.Коваленко; 109428, г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1; тел.: 8-495-995-88-61; e-mail: aquazeda@mail.ru.

UDC 579.62:619.57.083.1

PROPHYLACTICS OF VIBRIOSIS OF SALMONID FISHES IN INDUSTRIAL AQUACULTURE

Droshnev A.E., Zavyalova E.A., Gulyukin M.I.

Summary. Vibriosis is the large scale bacterial disease of fishes, shellfishes, crustacean, grown in the saltish and sea water. Increasing production volumes and, accordingly, fish-holding densities and the number of commercial units in local water areas cause the growing pressing of pathogenic microorganisms, lately causing эпизоотические diseases. Same factors do not allow to perform the 100% antibiotic therapy of the whole livestock, what causes the development of the antibiotic resistance of circulating strains, as well as reiterate onsets of эпизоотические diseases. The world practice of fighting against vibriosis consists in the blanket vaccination, for which nowadays many methods have been developed: baths, oral application, injections. This article comprises materials on the vaccine use against vibriosis at the commercial farm. Series of field experiences have established that bacterin baths are not efficient enough; the adjuvant enhances the protection up to 90-97% of the fish livestock, but has got shortages as well, for example, the oil adjuvant is poorly tolerated by fishes due to the local inflammatory reaction. For the industrial production it is recommended to select components, combining the decent protection level, but not causing such side effects as the aluminium hydroxide.

Key words: disease of salmon fish, rainbow trout, vibriosis, vibrio, vaccine, virulence, immunogenicity, biologics, antigen activity, adjuvant

References:

1. Bezgachina T.V. Problemy zdorovya ryb pri kultivirovani ikh v sadkakh [Problems of fish health at cultivation in cages]. – 2014. – pp. 22-26.
2. Vismanis K.O. Profilaktika i lechenie ryb pri akvakulture [Prevention and treatment of fish in aquaculture]. – 1980. – pp. 37-39.
3. Gulyukin M.I., Zavyalova E.A., Droshnev A.E., Kolomytsev S.A. Analiz epizooticheskoy situatsii po bolezniam ryb v Rossii [Analysis of the эпизоотическая ситуация по болезням рыб в России]. – Veterinariya. – Moscow, 2011 (8). – pp. 3-7.
4. Droshnev A.E., Zavyalova E.A. Konstruirovaniie vaksinnogo preparata protiv vibriozы lososevykh ryb [Construction of vaccine against vibriosis of salmon fish]. – Trudy VNIIEV. – Moscow, 2013 (77). – pp. 234-238.
5. Droshnev A.E., Zavyalova E.A., Bogdanova P.D., Bulina K.Yu. Razrabotka sovremennogo metoda zashchity zdorovya lososevykh ryb – vaksiny protiv vibriozы [Development of modern method – vaccine against vibriosis – for protecting health of salmonids]. – 2016. – pp. 408-413.
6. Droshnev A.E., Zavyalova E.A., Gulyukin M.I., Khlunov O.V. Sovremennaya vaksinoprofilaktika raduzhnoy foreli protiv vibriozы [Modern vaccine prevention of rainbow trout against vibriosis]. – Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. – Moscow: 2012 (1). – pp. 31-33.
7. Droshnev A.E., Zavyalova E.A., Khlunov O.V. Razrabotka novykh i sovshenstvovaniie primenyaemykh metodov profilaktiki vibriozы lososevykh ryb [Development of new and improvement of existing prevention methods of vibriosis of salmonids]. – Orenburg. 2012. – pp. 341-345.
8. Droshnev A.E., Zavyalova E.A., Khlunov O.V. Vidovoe raznoobrazie galofilynykh vibrionov Belogo morya i ikh epizooticheskaya znachimost [Species diversity of halophilic vibrioids of the White Sea and their эпизоотическая значимость]. – 2011. 78-80.
9. Zavyalova E.A., Droshnev A.E. Spetsificheskaya profilaktika vibriozы lososevykh ryb: neobkhodimost i perspektivy [Specific prevention of vibriosis of salmonids: necessity and prospects]. – 2016: 356-357.
10. Sposob polucheniya inaktivirovannoy vaksiny protiv vibriozы ryb [Process for preparing an inactivated vaccine against vibriosis fish]. – Patent 2284830. – Moscow, 2006. – p. 6.
11. Inaktivirovannaya vaksina protiv vibriozы ryb [Inactivated vaccine against vibriosis fish]. – Patent 2284831. – Moscow, 2006. – p. 4.
- 12-16. Vide supra.

Author affiliation

Droshnev Aleksey E., Ph.D. in Biology, senior researcher of the laboratory of ichthyopathology of the All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine named by Ya.R. Kovalenko: 24-1, Ryazansky av., Moscow, 109428; phone: 8-495-995-88-61; e-mail: asdf1961@mail.ru.

Gulyukin Mikhail I., D.Sc. in Veterinary Medicine, professor, director of the All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine named by Ya.R. Kovalenko: 24-1, Ryazansky av., Moscow, 109428; phone: 8-495-970-03-69; e-mail: admin@viev.ru.

Ответственный за переписку с редакцией: Zavyalova Elena A., Ph.D. in Biology, head of the laboratory of Ichthyopathology of the All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine named by Ya.R. Kovalenko: 24-1, Ryazansky av., Moscow, 109428; phone: 8-495-995-88-61; e-mail: aquazeda@mail.ru.