

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ**

**ФГБОУ ВО «КАЛИНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**ФГБОУ ВО «САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ им. Н.И. ВАВИЛОВА»**

**IV Национальная  
научно-практическая конференция**

**СОСТОЯНИЕ И ПУТИ РАЗВИТИЯ АКВАКУЛЬТУРЫ  
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Калининград, 8-10 октября 2019 г.**

УДК 639.3:639.5  
ББК 47.2  
С23

Редакционная коллегия:  
Васильев А.А., Кузнецов М.Ю., Сивохина Л.А., Поддубная И.В.

Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации: материалы IV национальной научно-практической конференции, Калининград – 8-10 октября 2019 г./ под ред. А.А. Васильева; Саратовский ГАУ. – Саратов: Амирит, 2019. – 267 с.

ISBN 978-5-00140-341-8

В сборнике материалов IV национальной научно-практической конференции приводятся результаты исследования по актуальным проблемам аквакультуры, в рамках решения вопросов продовольственной безопасности, ресурсосберегающих технологий производства рыбной продукции и импортозамещения. Для научных и практических работников, аспирантов и обучающихся по укрупненной группе специальностей и направлений подготовки 35.00.00 сельское, лесное и рыбное хозяйство.

Статьи даны в авторской редакции в соответствии с представленным оригинал-макетом.

**Сборник подготовлен и издан при финансовой поддержке  
ООО «Научно-производственное объединение «Собский рыбноводный завод»»  
Генеральный директор Д. Ю. Эльтеков**

ISBN 978-5-00140-341-8

© ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, 2019

**ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ, СИМПТОМЫ И  
ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ  
ГЕРПЕСВИРУСОМ СИБИРСКОГО ОСЕТРА (SBSHV), ШТАММОМ  
SK1/0406 И ИЗОЛЯТОМ SIZ6/0311**

Э.Л. ЕЛЕЕВ<sup>1</sup>, Л.И. ГРИЩЕНКО<sup>1</sup>, К.А. ЖУКОВА<sup>2</sup>

E.L. Eleev<sup>1</sup>, L.I. Grischenko<sup>1</sup>, K.A. Zhukova<sup>2</sup>

*<sup>1</sup>Московская государственная академия ветеринарной медицины и  
биотехнологии имени К.И. Скрябина.*

*<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и  
океанографии*

<sup>1</sup>Scryabin` Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology

<sup>2</sup>Russian Federal institute fisheries and oceanography

**Аннотация.** Проведены исследования симптомов и патоморфологических изменений сеголетков сибирского, заражённых штаммом SK1/0406 и изолятом SIZ6/0311 вируса герпеса сибирского осетра (SbSHV). В экспериментах по заражению сибирского осетра использованный вирус проявил высокую вирулентность (гибель рыб достигала 100%). У больных сеголетков, во всех поставленных опытах сходные симптомы и патогистологические изменения: десквамативный дерматит, гиалиново-капельная дистрофия эпителия мочевых канальцев, фокальный некроз паренхимы печени, катаральный энтерит средней кишки, гиперплазию кроветворной ткани лимфоидной железы.

**Ключевые слова:** герпесвирусная болезнь сибирского осетра, симптомы, паогистологические изменения

**Abstract.** The researches of symptoms and pathomorphology changes (PC) in underyearlings of Siberian sturgeon infected by strain SK1/0406 and isolate SIZ6/0311 of siberian sturgeon herpesvirus (SbSHV) were carried out. Symptoms and histopathology of affected by herpesvirus disease siberian sturgeon from unfavorable sturgeon farm on this disease were examined. In experiments on the infection of Siberian sturgeon, virus has shown high virulence (death reached up to 100%). In all experiments and in unfavorable sturgeon farm similar symptoms and (PC) were revealed: desquamate dermatitis, hyaline droplet degeneration in kidney tubule, focal necrosis of liver parenchyma, catarrhal enteritis midgut, hyperplasia of hematopoietic tissue of lymphoid gland. Saprolegnia sp. and Flexibakteria were also found in the skin tissues of some of the diseased fish.

**Keywords:** herpes virus disease sturgeon, symptoms, pathological and histological changes.

**Введение.** Герпесвирус (SbSHV) впервые выделен в России в 2006 году от больных сеголетков сибирского осетра [Щелкунов и др. 2010]. К настоящему времени изучены физическо-химические, молекулярные, биологические свойства герпесвируса сибирского осетра штамма SK1 04/06, отнесенного к 1 типу [Щелкунов И.С., 2010, Dozpoly A, et al., 2010, Shelkunov I.S. et al. 2009]. В 2011 году при исследовании герпесвирусной болезни в одном из хозяйств были выявлены особенности, не свойственные ранее полученным данным. Течение болезни, а также структура ДНК штамма SK1 /0406 и изолята SIz6/0311 имели существенные отличия, что позволило отнести полученный изолят ко 2 типу герпесвируса сибирского осетра.

Целью настоящей работы заключалась в сравнительной оценке течения, симптомов и патогистологических изменений при герпесвирусной болезни сеголетков сибирского осетра.

**Материалы и методики.** Материалом исследований служили сеголетки сибирского осетра, Экспериментальное воспроизведение герпесвирусной инфекции проводилось в ВНИИВВиМ, г. Покров, гистологические исследования в МГАВМиБ – МВА им. К.И. Скрябина, Москва.

С этой целью в аквариумах было поставлено два опыта по экспериментальному заражению сеголетков осетров вирусом герпеса – SbSHV, выделенным из покровных тканей спонтанно больных осетров.

В первом варианте сеголетков сибирского осетра (возраст 2 мес.) заражали штаммом SK1/0406. Во втором — использовали сеголетков сибирского осетра (возраст 2 мес.) и изолят SIz6/0311. В опытных группах брали по 40 и в контрольных по 10 экземпляров рыб. Рыбы для формирования подопытных и контрольных групп получены из заведомо благополучных по инфекционным болезням рыбхозов на стадии личинок, которых дорастивали изолированно в лабораторных условиях.

Перед постановкой опытов рыб адаптировали 15 дней к условиям аквариумов и заражали методом ванн [Щелкунов и др., 2009] в течение 1 часа. В ёмкость для заражения помещали рыб в соотношении ихтиомассы к массе воды 1:10, добавляли вируссодержащую жидкость, заражённую вирусом постоянной линии клеток SSO-2, в объёме 1/100 от объёма воды в аквариуме, что обеспечивало конечную концентрацию вируса  $10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл. После заражения рыб пересаживали в проточные (со скоростью 100 л/ч) аэрируемые аквариумы ёмкостью 100 л с артезианской водой с температурой 14-16<sup>0</sup>С. Рыб контрольных групп обрабатывали также, как и опытных, используя культуральную жидкость незаражённых клеток той же клеточной линии.

Вирусологические исследования подопытных и контрольных рыб (выделение и расчёт титра вируса) проводили согласно существующим методикам [Белоусова и др., 2006; Щелкунов и др., 2009; Щелкунов, Щелкунова, 2009]. Вирус идентифицировали по ЦПД в культуре клеток SSO-2.

Вскрытие и отбор материала для гистологических исследований проводили от больных рыб с выраженными клиническими признаками заболевания за несколько часов до их гибели. После описания патологоанатомических изменений кожи, жабр и внутренних органов, кусочки органов размером 0,5x1,0 см. фиксировали в 10%-ном забуференном растворе формалина. Материал для гистологических исследований обезвоживали изопропиловым спиртом возрастающей крепости, заливали в зависимости от целей исследований в парафин, и в желатину. Парафиновые срезы готовили на ротационном микротоме. Для окраски срезов применяли общую обзорную методику гематоксилин - эозином, на жир суданом III [Меркулов, 1961; Микодина и др., 2009].

**Результаты заражения рыб, вирусологических.** Заболевание воспроизведено во всех опытах, но тяжесть течения и клинического проявления инфекции несколько различалась в разных группах. Герпесвирус выделяли из всех органов рыб, взятых для исследований. При этом содержание вируса во всех биопробах в одних и тех же органах было приблизительно одинаково: в пробах из кожи и плавников – 6-8 IgТЦД<sub>50</sub>/мг ткани; в печени, почках, кишечнике и сердце – 6-7 IgТЦД<sub>50</sub>/мг ткани; жабрах – 5-6 IgТЦД<sub>50</sub>/мг ткани; в мозге и селезёнке – 3-5 IgТЦД<sub>50</sub>/мг ткани.

В первой биопробе при заражении штаммом SK1/0406 инкубационный период составил 10 суток, первая рыба погибла на 19 сутки после заражения, смертность достигала 100% в течение 15 суток. Во второй биопробе при заражении штаммом SIz6/0311 сеголетков сибирского осетра инкубационный период длился 32 суток, первая рыба погибла на 38 сутки после заражения, в течение 18 суток смертность составила 100%.

**Симптомы болезни.** В первом и во втором опытах клинические признаки были сходны. Впервые дни заболевания у рыб отмечали угнетение, отказ от корма, нарушение координации движения, некоторые особи плавали на боку или на спине, ложились на дно, на бок или вверх брюшком, принимали вертикальное положение – на голове и грудных плавниках или на хвосте головой вверх. У заболевших сеголетков наблюдали учащенное дыхание, бледную окраску тела. На 3–5 сутки после появления первых клинических признаков на коже появлялись полупрозрачные узелки (бляшки) до 3 мм, у отдельных особей на боковой поверхности наблюдались участки с инъецированными сосудами кожи, на грудных, брюшных и анальных плавниках бледные пятна и налёт слизи. На 4–8 сут. после появления первых клинических признаков у рыб развивались очаги гиперемии на коже и множественные точечные кровоизлияния в области жучек, на кончиках плавников были заметны участки распада покровных тканей, у многих особей отмечали покраснение ануса, при этом у части рыб была вывернутая наружу, гиперемированная прямая кишка.

**Патологоанатомические изменения.** При вскрытии у больных на брюшине видны точечные кровоизлияния. Печень бледная, рыхлая, желчный

пузырь переполнен желчью. Селезёнка со светлыми пятнами. Почки бледные, истончены, у отдельных особей – увеличены, тёмно-красного цвета. Желудок без видимых изменений. Слизистая оболочка средней кишки гиперемирована. Полость спиральной кишки заполнена слизеподобной жидкостью. Лимфоидная железа, покрывающая желудочек сердца, увеличена. Поджелудочная железа без видимых изменений.

**Патогистологические изменения.** У больных сеголетков, экспериментально заражённых и доставленных из рыбоводного хозяйства, выявляли сходные гистологические изменения кожи и внутренних органов. При этом у всех заболевших герпесвирусной инфекцией рыб отмечали следующие изменения микроструктуры кожи: гиперпластическое разрастание эпидермиса, переполнение слизью слизистых клеток и их разрывы вплоть до полного разрушения, десквамация эпидермиса, изъязвления и деформация жучек. Незадолго до гибели у отдельных особей развивался очаговый некроз кожи и дерматомиозит, который выражался застойной гиперемией и диапедезными кровоизлияниями (Рис. 1).

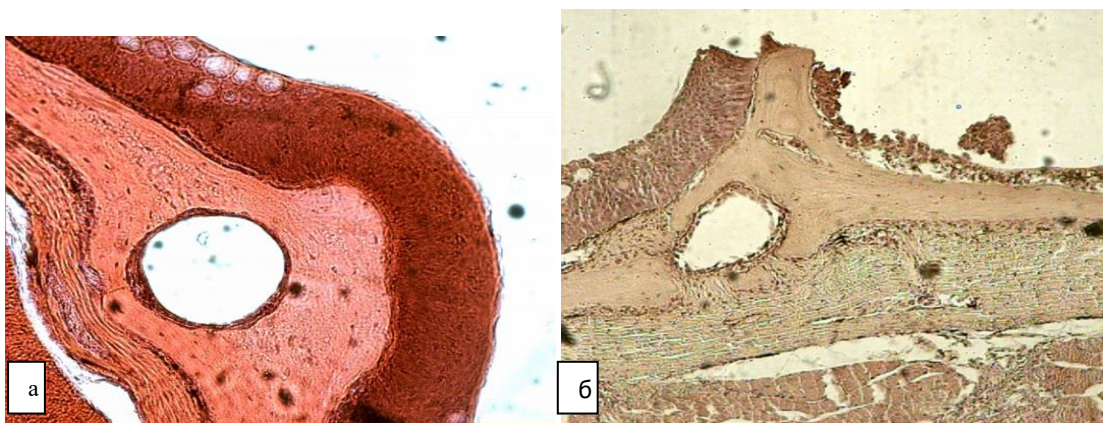


Рис.1. Микроструктурные изменения в коже. Гематоксилин и эозин:  
а – боковая жучка, норма. Об.10, ок.10;  
б – хвостовой стебель в области боковой жучки, десквамация эпидермиса, Об.10, ок.10

В печени отмечали зернистую (белковую) и гидропическую дистрофии гепатоцитов, выразившиеся в деформации ядер и вакуолизации цитоплазмы клеток, а также очаговом некрозе паренхимы. У рыб, с наиболее яркими проявлениями симптомов и с признаками гипотрофии внутренних органов, в печени отмечали некроз гепатоцитов и резорбцию жира (Рис. 2).

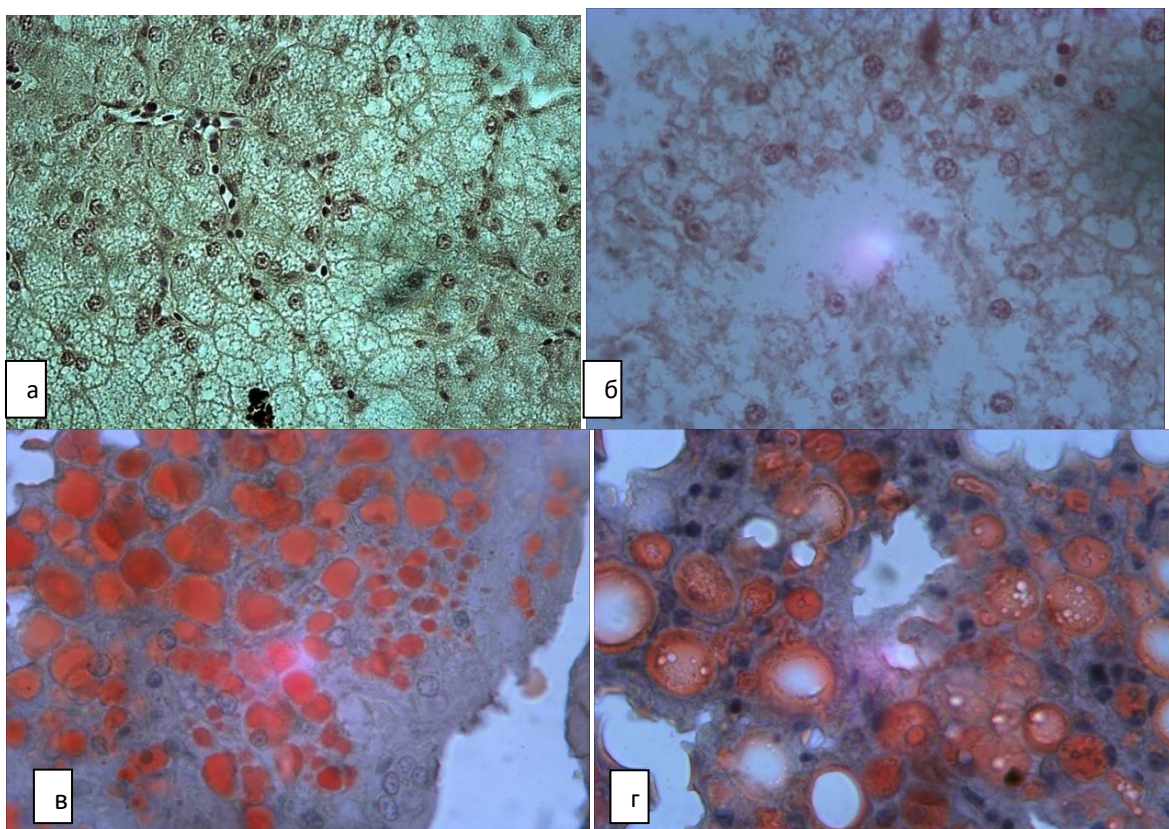


Рис.2. Микроструктурные изменения в печени:  
 а – норма. Гематоксилин и эозин. Об. 10, ок.10;  
 б – кариопикноз, некроз гепатоцитов. Гематоксилин и эозин. Об. 20, ок.10;  
 в – жировая инфильтрация в норме, судан III. Об.10, ок.10;  
 г – резорбция жира, вакуольная дистрофия у больных, истощённых рыб. Об. 10, ок.10.

В почках выявляли очаги гиперплазии гемопоэтической ткани. У части рыб наблюдали гиалиново-капельную дистрофию, проявляющуюся скоплением эозинофильных капель в цитоплазме нефроцитов. В ряде случаев регистрировали крупные очаги кровоизлияний в гемопоэтическую ткань, деструкцию и некроз тканей клубочков (Рис. 3).

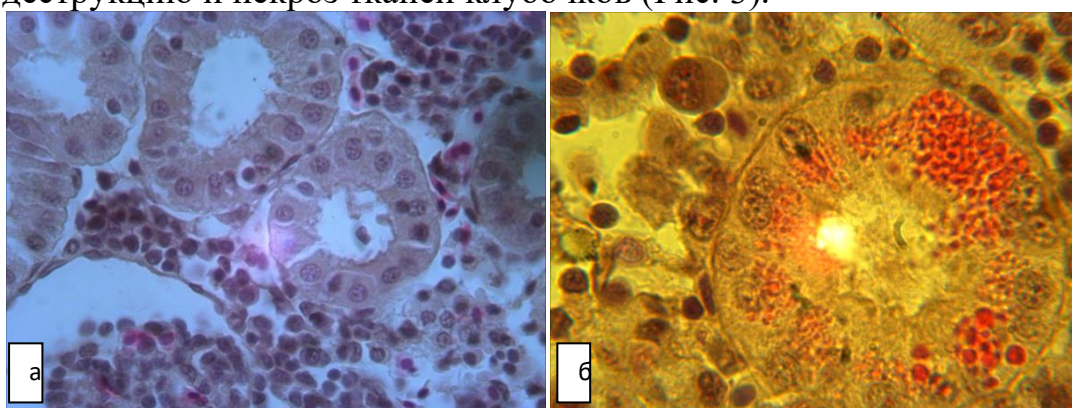


Рис. 3. Гистопатологические изменения в почках. Гематоксилин и эозин:  
 а – клубочки и гемопоэтическая ткань, норма. Об.10, ок.10;  
 б – гиалиново-капельная дистрофия в эпителиальных клетках почечных канальцев. Об.90, ок.10.

У большей части больных рыб микроструктурные изменения кишечника включали: слущивание покровного эпителия и десквамативный катар в средней кишке (Рис.4).

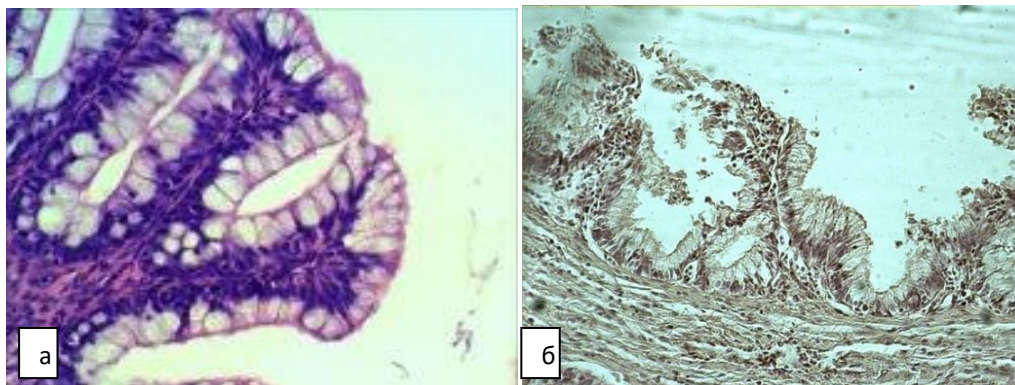


Рис. 4. Гистопатологические изменения в средней кишке. Гематоксилин и эозин: а – норма. Об.40, ок.10; б – десквамация покровного эпителия. Об.10, ок.10

Таким образом, при постановке биопроб были выполнены все постулаты Коха – Риверса [Rivers, 1937; Wolf, 1970], что позволило подтвердить данные литературы о вирусной этиологии данного заболевания [Щелкунов и др., 2010]. Используемые в экспериментах штамм SK1/0406 и изолят SIz6/0311 показали высокую вирулентность для молоди сибирского осетра: гибель рыб достигала 100 %.

Результаты проведенных патоморфологических исследований раскрывают основные стороны патогенеза данной болезни. Они показывают, что возбудитель герпесвирусной инфекции осетров, в первую очередь, вызывает патологические изменения кожного покрова (дистрофию, некроз, десквамацию эпидермиса) и тем самым снижает его барьерную функцию. Это способствует диссеминации вируса во внутренние органы, где он оказывает особенно существенные дистрофические и некротические изменения в печени, почках, средней кишке. Следовательно, при тяжелом течении данная инфекция может переходить в генерализованную форму. Характерными для герпесвирусной болезни, по нашим данным, следует считать десквамативный дерматит, белковую дистрофию и фокальный некроз паренхимы печени, гиалиново-капельную дистрофию эпителия мочевых канальцев, катаральный энтерит средней кишки, гиперплазию кроветворной ткани лимфоидной железы сердца.

**Заключение.** В целом наши результаты в сочетании с литературными данными позволяют рассматривать герпесвирусную болезнь сибирского осетра как самостоятельное заболевание (нозологическую единицу). Учитывая, что клинико-морфологические изменения при данной болезни не являются строго специфичными, их следует использовать для постановки предварительного диагноза. Окончательный диагноз необходимо ставить на основании выделения и идентификации вируса в чувствительных культурах клеток (SSO-2, WSS-2),



постановки ПЦР цитопатического действия и, дополнительно, электронной микроскопии. Герпесвирусную болезнь следует дифференцировать от флексибактериоза и дерматомикоза на основании эпизоотологических данных, клинико-анатомических признаков, а также бактериоскопии или бактериологических исследований.

#### Список литературы:

1. Белоусова Р.В., Троцинко Н.И., Преображенская Э.А. 2006. Практикум по ветеринарной вирусологии. М.: Издательство «КолосС». Стр. 248.
2. Меркулов Г.А. 1961. Курс патологогистологической техники. Л.: Издательство медицинской литературы. 340 с.
3. Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский А.А., Микулин А.Е., Пьянова С.В., Полуэктова О.Г. 2009. Гистология для ихтиологов. М.: Издательство ВНИРО. 112 с.
4. Щелкунов А.И. 2009. Биологические, физико-химические и молекулярные свойства герпесвируса сибирского осетра. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Покров. ВНИИВВиМ. 23 с.
5. Щелкунов А.И., Щелкунов И.С. 2010. Герпесвирусная болезнь сибирского осетра// Ветеринария. № 1. Стр. 18 – 21.
6. Щелкунов И.С., Щелкунов А.И., Щелкунова Т.И., Балышева В.И. Методические рекомендации по диагностике герпесвирусной болезни сибирского осетра. М. 2009. Стр. 9
7. Doszpoly A., Shchelkunov I.S. 2010. Partial genome analysis of siberian sturgeon alloherpesvirus suggests its close relation to ACIHV-2-short communication // Acta Veterinaria Hungarica 58(2). P. 269-274.
8. Rivers T. 1937. Viruses and Koch's postulates // J Bacteriol. V. 33. P. 1–12.
9. Shchelkunov I.S., Shchelkunova T.I., Kolbassova Y.P., Didenko L.V., Bykovsky A.P. 2009. First detection of a viral agent causing disease in farmed sturgeon in Russia // Dis. Aquat. Org. V. 86. № 3. P. 193-203.