

УДК 639.3.09

ЭПИЗООТИЯ ИНФЕКЦИОННОГО НЕКРОЗА ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ ТКАНИ У МОЛОДИ НЕРКИ *ONCORHYNCHUS NERKA* (WALBAUM) НА ЛРЗ «ОЗЕРКИ» (КАМЧАТКА) В 2017 Г.

С.Л. Рудакова, Е.В. Бочкова, А.Н. Акбатыров*

Зам. дир., к. б. н.; ст. н. с.; Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии

683000, Петропавловск-Камчатский, Набережная, 18

Тел., факс: (4152) 41-27-01. E-mail: rudakova@kamniro.ru, Bochkova.e.v@kamniro.ru

*Директор лососевого рыбного завода «Озерки», ФГБУ «Севвострыбвод»

683009, Петропавловск-Камчатский, ул. Академика Королева, д. 58

Тел.: (4152) 23-58-00, факс 41-72-62. E-mail: info@rybvod.kamchatka.ru

ИНФЕКЦИОННЫЙ НЕКРОЗ ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ ТКАНИ, МОЛОДЬ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ, НЕРКА, ЛОСОСЕВЫЙ РЫБОВОДНЫЙ ЗАВОД, ЭПИЗООТИЯ

В марте 2017 г. при обследовании мальков нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), выращиваемых на лососевом рыбноводном заводе «Озерки» (ОЛРЗ), выявили клинические признаки инфекционного заболевания. При инокуляции отобранным материалом перевиваемых линий клеток CHSE-214 и ЕРС обнаружили признаки цитопатического эффекта. В полимеразной цепной реакции патоген идентифицировали как вирус инфекционного некроза гемопоэтической ткани. Средний титр вируса — $0,4 \times 10^{6,6}$ ТСД₅₀/мл тестируемого материала. Первый резкий повышенный отход молоди нерки произошел через 10 дней после поднятия на плав личинок в середине марта и только в одном бассейне. В середине апреля началась повышенная гибель рыб еще в 5 бассейнах, в которых также диагностировали ИHN. В мае было еще три волны болезни в группах бассейнов. Болезнь протекала в острой форме, с типичными для данного заболевания признаками патологии. Рыба в пораженных вирусом бассейнах была уничтожена в соответствии с ветеринарными требованиями. В результате болезни погибло и/или было уничтожено 60% молоди нерки, выращиваемой на ОЛРЗ. Вероятно, вспышка ИHN у рыб произошла в результате вертикальной передачи вируса от производителей потомству.

THE EPIZOOTY OF THE INFECTIOUS HEMATOPOIETIC NECROSIS AMONG JUVENILE SOCKEYE SALMON *ONCORHYNCHUS NERKA* (WALBAUM) AT THE “OZERKI” SALMON HATCHERY (KAMCHATKA) IN 2017

S.L. Rudakova, E.V. Bochkova, A.N. Akbatirov*

Deputy Director, Ph. D. (Biology); Senior Scientist; Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography

683000, Petropavlovsk-Kamchatsky, Naberezhnaya Str., 18

Tel.: (4152) 41-27-01. E-mail: rudakova@kamniro.ru, Bochkova.e.v@kamniro.ru

*Director of the Salmon Hatchery “Ozerki”, FGBI “Sevvostrybvod”

683009, Petropavlovsk-Kamchatsky, Akademika Koroleva Str., 58

Tel.: (4152) 23-58-00. E-mail: info@rybvod.kamchatka.ru

INFECTIOUS HEMATOPOIETIC NECROSIS, JUVENILE PACIFIC SALMON, SOCKEYE SALMON, SALMON HATCHERY, EPIZOOTY

Clinical signs of infection diseases were observed in course of examination of juvenile sockeye *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) at the SH “Ozerki” in March of 2017. The inoculation of this material on the cell line CHSE-214 and EPC revealed traits of cytopathic effect. The virus infectious hematopoietic necrosis (IHN) was identified in the polymerase chain reaction (PCR). The main virus titres of tested material was $0,4 \times 10^{6,86}$ TCD₅₀/ml. The first acute loss of juvenile sockeye salmon was observed in mid-March, 10 days on rising the larvae and just in one basin. In mid April the losses of the fish were observed in next 5 basins, where IHN was also found. In May three more waves of the disease were in basin clusters. The disease was acute with typical signs of the pathology for mentioned disease. The fish in the basins infected were killed according to veterinary prescriptions. As a result of the disease 60% of juvenile sockeye salmon reared at the SH “Ozerki” dead or were terminated. It is most likely, that the outbreak of the IHN among juvenile sockeye salmon was due to vertical transmission of the virus from parents to progeny.

Инфекционный некроз гемопоэтической ткани — это опасное заболевание молоди лососей, включенное в Перечень болезней Международного эпизоотиче-

ского бюро, которые необходимо контролировать на государственном уровне. При искусственном воспроизводстве молоди потери в результате эпизоотий могут достигать 100%. Эффективные методы лечения болезни и вакцины не разработаны. Возбудителем инфекционного некроза гемопоэтической ткани является рабдовирус (сем. *Rabdoviridae*) рода *Novirhabdovirus* (Bootland, Leong, 1999). Впервые болезнь описана в 50- годах у нерки на рыбоводных заводах в штатах Вашингтон и Орегон на западном побережье США (Rucker et al., 1953; Watson et al., 1954). В Японию, Францию, Италию, Германию, Китай, Корею инфекционный агент был занесен из Северной Америки при экспорте икры и рыбы (Bootland, Leong, 1999). В России болезнь впервые зарегистрировали в 2000 г. в рыбопитомнике Московской области у радужной форели (Shchelkunov et al., 2001), в 2001 г. вирус впервые выделили на Камчатке у половозрелой нерки бассейна р. Большой (Рудакова, 2003). А в 2002 и 2004 гг. на ЛРЗ Камчатки у молоди нерки был диагностирован инфекционный некроз гемопоэтической ткани, в результате погибло и/или было уничтожено от 30 до 70% выращиваемой молоди. В последующие годы вирус регулярно выделяли у этого вида рыб в бассейнах, базовых для ЛРЗ Камчатки рек.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В 2017 г. провели вирусологическое обследование сеголетков нерки и кеты на лососевом рыбоводном заводе «Озерки» (ОЛРЗ). Обследовали 559 и 120 экз. нерки и кеты соответственно. Из бассейнов, в которых не был зарегистрирован повышенный отход, молодь нерки и кеты отбирали в количестве 30–35 шт. методом случайных выборок и доставляли в лабораторию живыми. При повышении отхода нерки в первом бассейне было отобрано 80 экз. рыб методом случайной выборки, в последующем из бассейнов с повышенным отходом отбирали умирающую или недавно погибшую молодь в количестве 10–15 шт. (Fish pathology..., 2009).

Молодь обрабатывали попульно, объединяя в один пул 5 экз. Для выявления вирусных агентов использовали линии клеток CHSE-214 (эмбрион чавычи) и ЕРС (эпидермальные новообразования большого оспой карпа). Культивирование и инокуляцию клеточных культур проводили по общепринятым методикам (Сборник инструкций..., 1998). Заражение клеток осуществляли одновременно с их посевом на 96-луночных микропанелях, которые инкубировали при 15 °С в течение 10–14 дней. В случае отсутствия цитопатического эффекта (ЦПЭ) осуществляли второй пассаж материала на свежую линию клеток. Ре-

зультат считали негативным при отсутствии признаков ЦПЭ во втором пассаже. Для расчета титра и идентификации вируса использовали традиционные вирусологические методы: реакцию титрования по Риду и Менчу (Лабораторный практикум..., 1983) и полимеразную цепную реакцию — ПЦР (Fish pathology..., 2009).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По информации директора ОЛРЗ, первоначально в середине марта 2017 г. резкий повышенный отход был зафиксирован только в бассейне № 4. В один день погибло более 500 шт., хотя до этого суточный отход не превышал 80 экз. Для постановки диагноза пробы были отобраны и доставлены в Камчатскую межобластную ветеринарную лабораторию (КМВЛ), где диагностировали псевдомоноз и назначили лечение антибиотиками. Однако лечебные обработки антибиотиками не помогали, отход молоди увеличивался, и через 10 дней, когда первые пробы были доставлены в лабораторию здоровья гидробионтов ФГБНУ «КамчатНИРО», достиг более 8000 шт. в день. При бактериологических и паразитологических исследованиях патогенов, способных оказывать существенное влияние на состояние здоровья сеголеток, не обнаружили. Результаты вирусологических исследований молоди нерки во время эпизоотии представлены в таблице 1.

Основными признаками патологии у больной молоди были кровоизлияния в районе грудных плавников и анального отверстия и пустой желудочно-кишечный тракт, наполненный беловатым содержимым (рис. 1; табл. 1). При наличии на перевиваемых линиях клеток признаков ЦПЭ проводили идентификацию выделенного вируса в полимеразной цепной реакции.

Развитие ЦПЭ обычно начиналось на 3–4 день после инокуляции, с появления отдельных скоплений округлых, мертвых клеток, затем на их месте образовывалась дырочка в монослое, окруженная погибшими клетками, такие очаги увеличивались в размерах, сливались, образуя скопления округлых клеток в форме гроздьев винограда.

Впоследствии, через 6–8 дней, в лунках с ЦПЭ, как правило, происходило полное разрушение всех клеток. В лунках без ЦПЭ сохранялся сформированный, без признаков дегенерации клеточный монослой.

Плановое вирусологическое обследование молоди кеты, выращиваемой в одном цехе с неркой, перед выпуском ее в естественный водоем не показало наличия ЦПЭ на перевиваемых линиях клеток.

Таблица 1. Результаты вирусологического тестирования молоди нерки на ОЛРЗ в 2017 г.

Дата отбора проб	№ бассейна	Количество отобранных рыб, шт.	Признаки патологии	ЦПЭ*	ПЦР**	Средний титр***, ТСД ₅₀ /мл	% проб с ЦПЭ на линиях клеток
22.03	14	80	Во время плавания рыбы переворачивались на спину, темная окраска тела, серые жабры, кровоизлияния в районе грудных плавников и у ануса, желудочно-кишечный тракт наполнен беловатым содержимым	+	+	$0,4 \times 10^{5,4}$	100
06.04	12	35	Умиравшие и живые рыбы без признаков патологии	+	+	н/п	14,3
	13	35		+	+	$0,4 \times 10^{5,5}$	57,1
	15	35		+	+	$0,4 \times 10^{6,1}$	85,7
17.04	16	10	Мертвые и умирающие рыбы, кровоизлияния в районе ануса, желудочно-кишечный тракт вздутый, без пищи, наполнен беловатым содержимым	+	+	$0,4 \times 10^{9,8}$	100
	20	10		+	+	$0,4 \times 10^{9,5}$	100
20.04	12	10	Мертвые и умирающие рыбы, кровоизлияния в районе ануса, желудочно-кишечный тракт вздутый, без пищи, наполнен беловатым содержимым	+	+	$0,4 \times 10^{7,6}$	100
	17	10		+	+	$0,4 \times 10^{6,5}$	100
	31	15		+	+	$0,4 \times 10^{6,5}$	100
03.05	18	10	Мертвые и умирающие рыбы, пустой желудочно-кишечный тракт	-	-	н/п	
	23	10		+	+	$0,4 \times 10^{2,5}$	100
	32	10		+	+	$0,4 \times 10^{2,5}$	100
	34	10		+	+	$0,4 \times 10^{2,5}$	100
11.05	5	15	Умиравшие и живые без признаков патологии	-	н/п	н/п	
	6	15		-	н/п	н/п	
	7	15		-	н/п	н/п	
	8	15		-	н/п	н/п	
	9	15		-	н/п	н/п	
	10	15		-	н/п	н/п	
	11	15		-	н/п	н/п	
15.05	18	15	Умиравшие и живые без признаков патологии	-	н/п	н/п	
	19	15		+	+	$0,4 \times 10^{7,2}$	66,7
	21	15		-	н/п	н/п	
	22	15		-	н/п	н/п	
	24	15		-	н/п	н/п	
	25	15		+	+	н/п	33,3
16.05	26	15	Мертвые и умирающие рыбы, кровоизлияния в районе ануса и грудных плавников, желудочно-кишечный тракт вздутый, без пищи, наполнен беловатым содержимым	-	н/п	н/п	
	27	13		+	+	$0,4 \times 10^{7,7}$	100
	28	15		+	+	$0,4 \times 10^{8,5}$	100
	29	11		+	+	$0,4 \times 10^{6,4}$	100
	30	15		+	+	$0,4 \times 10^{9,8}$	100
33	15	+	+	$0,4 \times 10^{7,6}$	100		

Примечание: * «+» — на перевиваемых линиях клеток есть признаки ЦПЭ; «-» — признаков ЦПЭ нет; ** «+» — в полимеразной цепной реакции патоген идентифицирован как вирус инфекционного некроза гемопоэтической ткани; «н/п» — реакцию не проводили; *** «н/п» — реакцию титрования не проводили.

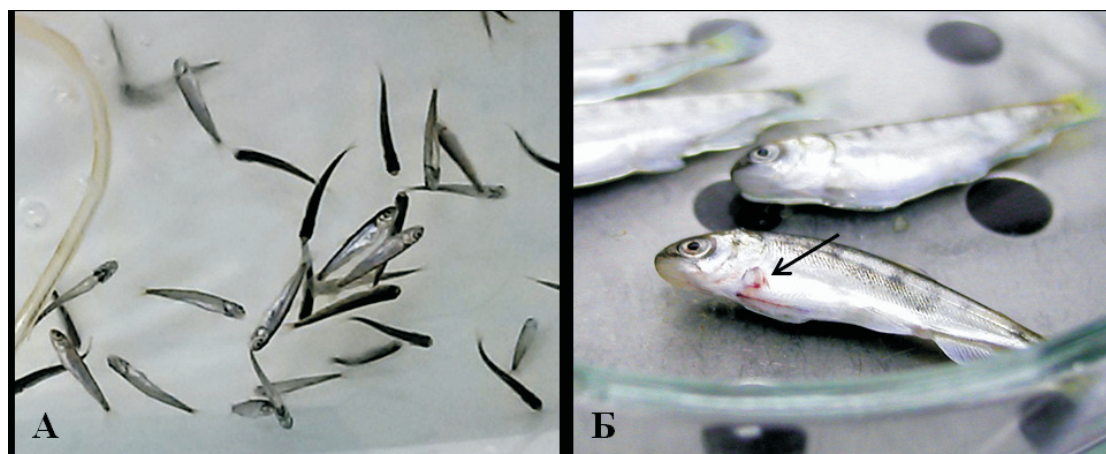


Рис. 1. Визуальные признаки патологии у мальков нерки: А — темная окраска тела, поворот на бок и на спину; Б — кровоизлияния в области грудных плавников (↑)

Первый резкий повышенный отход молоди нерки в бассейне № 14 произошел через 10 дней после поднятия на плав при массе рыбы 0,2 гр. Следующее обследование мальков было проведено в начале апреля в трех бассейнах (№ 12, 13 и 15), закладка на инкубацию икры в которых проводилась от одной с бассейном № 14 партии производителей. В лабораторию была доставлена молодь без признаков патологии из типичного ежедневного отхода. При этом в двух бассейнах (№ 13 и № 15) признаки ЦПЭ на перевиваемых линиях клеток появились на 4-й день, а в бассейне № 12 — только на 13-й день, причем всего в одной лунке. В первых упомянутых бассейнах отход начал превышать 100 шт. с 12 апреля, а в последнем — с 15 апреля. В это же время гибель рыб началась еще в 4 бассейнах (табл. 1).

Пять из семи пораженных ИHNV бассейнов находились в непосредственной близости от бассейна № 14 (бассейны № 12, 13, 15, 16, 17). Отход более 100 шт. в день появился на 32–43 день после поднятия на плав и не был таким молниеносным и высоким, как в бассейне № 14 (рис. 2).

Следующая волна гибели рыб началась первого мая сразу в трех бассейнах (№ 23, 32 и 34) на 48–57 день после поднятия на плав. В середине мая провели вирусологическое обследование оставшихся

тринадцати бассейнов с молодью нерки без признаков патологии (бассейны № 5–11, 19, 21, 22, 24–26) и пяти бассейнов, где появились признаки заболевания и повышенный отход (№ 27–30, 33). ИHNV обнаружили в двух «благополучных» бассейнах (№ 19 и 25) и во всех пяти проблемных. Таким образом, из тридцати бассейнов, в которых выращивали нерку в 2017 г., вирус инфекционного некроза гемопоэтической ткани выделили в восемнадцати, т. е. у 60%. Вся рыба из неблагополучных по ИHN бассейнов на ОЛРЗ уничтожалась по мере лабораторного подтверждения диагноза (табл. 2), согласно Приказа ФГБУ «Севострыбвод» и в присутствии представителей Агентства по ветеринарии Камчатского края (табл. 2).

Чтобы лучше понять причины возникновения эпизоотии ИHN у мальков нерки на ЛРЗ «Озерки»,

Таблица 2. Уничтожение молоди нерки, пораженной вирусом инфекционного некроза гемопоэтической ткани на ОЛРЗ в 2017 г.

Дата уничтожения молоди	Номера уничтоженных бассейнов
04.04.2017	14
19.04.2017	15,13
27.04.2017	31, 20, 17, 16,12
12.05.2017	23, 34, 32
26.05.2017	19, 27, 28, 29, 30, 33
01.06.2017	25

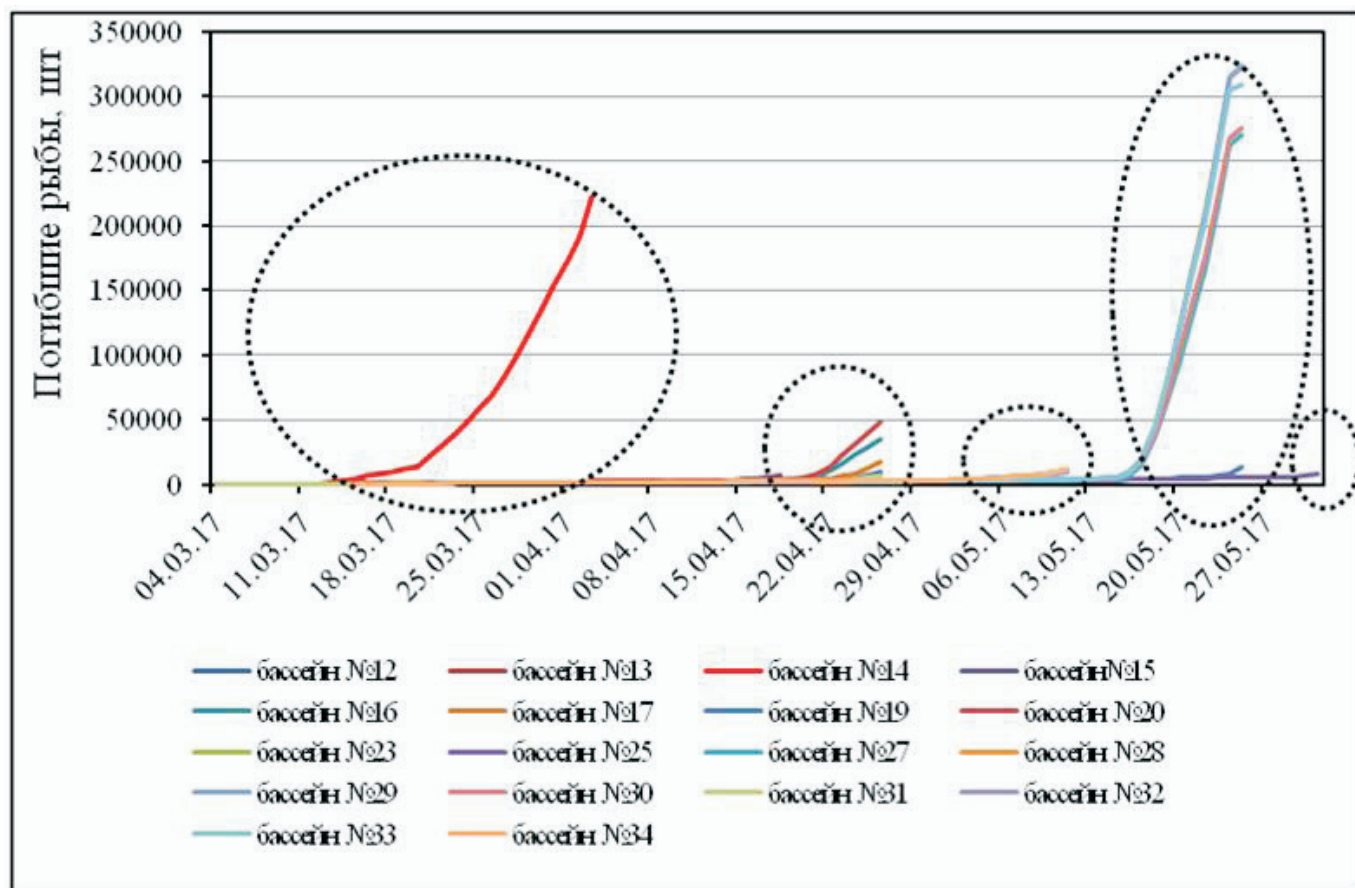


Рис. 2. Суммарное количество погибших рыб в бассейнах ОЛРЗ, пораженных инфекционным некрозом гемопоэтической ткани в 2017 г. Овалами обозначены всплески болезни у молоди нерки в разных группах бассейнов

остановимся на описании технологического процесса и источника водоснабжения этого завода.

Отбор производителей для воспроизводства осуществляется в августе–сентябре от заводских рыб, вернувшихся на нерест непосредственно в ручей, на котором расположен завод, или на р. Ключевке, куда возвращаются производители Малкинского ЛРЗ. До полного созревания рыба содержится в садках, которые расположены непосредственно в конце завода. В процессе оплодотворения икру дезинфицировали в растворе йодиола в соответствии с рекомендациями, разработанными ФГБНУ «КамчатНИРО» на основе американских мер по контролю и профилактике ИHN на заводах Америки, выращивающих нерку (Alaska..., 1994). Инкубация икры проводится в инкубационном цехе, затем икру для выклева помещают на субстрат непосредственно в 30 выростных бассейнах, расположенных в одном цехе. Молодь подращивают с января по июнь и выпускают в естественный водоем (ручей, соединенный бетонным каналом с заводом). На заводе одновременно выращивают нерку и кету одного возраста. После выпуска молоди на заводе проводится дезинфекция всего оборудования и выростных бассейнов и подготовка к следующему сезону.

Для водоснабжения на ОЛРЗ используются два источника: основной находится в 1,9 км от завода (грунтовые воды собираются в подземные перфорированные трубы, закопанные в галечник); дополнительный — это подрусловой поток ручья без названия, впадающего в р. Плотникова, в котором нет естественных нерестилищ рыб. Однако в период паводка рыба может заходить к этому ручью. Подача воды во все бассейны ведется из одного и того же источника водоснабжения, перед поступлением в бассейны вода проходит через ультрафиолетовую установку (рис. 3); эпизоотия ИHN была изначально зафиксирована только в одном бассейне № 14.

Таким образом, можно исключить заражение обработанной йодиолом икры, личинок или мальков вирусом инфекционного некроза гемопоэтической

ткани, попадающим на завод с водой: в этом случае гибель рыб началась бы во всех бассейнах.

По всей вероятности, первоначальное заражение выращиваемой на ОЛРЗ молоди нерки ИHN произошло в результате вертикальной передачи вируса от производителей-вирусоносителей потомству. В 2016 г. при закладке икры на инкубацию на ОЛРЗ асимптоматическое носительство ИHNV обнаружили у 23,3% производителей, причем значения вирусных титров были высокими и изменялись от $0,4 \times 10^{6,4}$ до $0,4 \times 10^{8,6}$ ТЦД₅₀/мл тестируемого материала при среднем значении $0,4 \times 10^{7,3}$ ТЦД₅₀/мл. Начиная с 2002 г., ИHNV регулярно выделяется у половозрелой нерки, вернувшейся на нерест в бассейн реки Большой (базовый водоем ОЛРЗ). Таким образом, популяции нерки в бассейне р. Большой являются естественным резервуаром вируса инфекционного некроза гемопоэтической ткани.

Дальнейшее распространение заболевания по бассейнам, вероятнее всего, стало результатом разноса вируса при различных манипуляциях при осуществлении кормления и чисток бассейнов. В соседние бассейны вирус мог попасть с брызгами воды, поскольку они расположены в полуметре друг от друга.

В первом пораженном бассейне гибель рыб за 22 дня болезни составила практически 50%, при этом первые две недели, пока не был поставлен окончательный диагноз, меры по купированию пораженного бассейна не предпринимались. Напротив, проводилась активная его обработка антибиотиками, что, естественно, могло способствовать распространению патогена по другим бассейнам. В дальнейшем уничтожение рыб в пораженных вирусом бассейнах происходило быстрее, сразу после постановки диагноза, на 8–15 день, при этом смертность рыб в бассейнах была еще незначительной, от 1,1 до 10,4%. Исключение составила предпоследняя партия зараженной рыбы, отход в пяти бассейнах за 20 дней болезни составил 60–70%. Температура воды на ОЛРЗ в мае была на 0,3 °C ниже, чем в марте — 4,4°C. Рыбоводы, зная о том, что бассейны будут уничтожены, поскольку на заводе эпизоотия ИHN, перестали кормить большую молодь в целях экономии корма, тем самым дополнительно ослабив их и спровоцировав повышенную смертность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В марте 2017 г. у мальков нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), выращиваемых на лососевом рыбноводном заводе «Озерки» (ОЛРЗ), диагностировали инфекционный некроз гемопоэтической ткани. Первый повы-

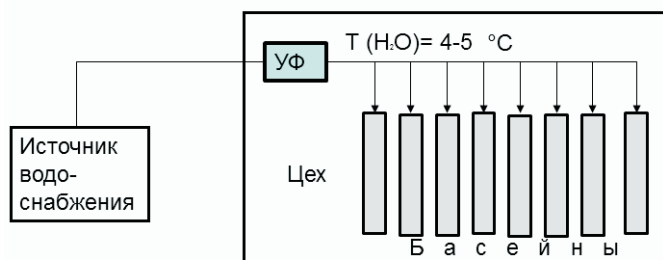


Рис. 3. Схема водоснабжения и расположения бассейнов на ОЛРЗ (УФ-ультрафиолетовая установка)

шенный отход молоди нерки произошел через 10 дней после поднятия на плав личинок в середине марта и только в одном бассейне. В середине апреля началась значительная гибель рыб еще в 5 бассейнах, в которых также диагностировали ИHN. В мае было еще три волны болезни в группах бассейнов. Болезнь протекала в острой форме, с типичными для данного заболевания признаками патологии. Рыба в пораженных вирусом бассейнах была уничтожена в соответствии с ветеринарными требованиями. В результате болезни погибло и/или было уничтожено 60% молоди нерки, выращиваемой на ОЛРЗ. Вероятно, вспышка ИHN у рыб произошла в результате вертикальной передачи вируса от производителей потомству.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Лабораторный практикум по болезням рыб. 1983. Под ред. В.А. Мусселиус. М.: Лег. и пищ. пром-сть. 296 с.
- Рудакова С.Л. 2003. Некроз гемопоэтической ткани у производителей нерки и предполагаемые источники инфекции // Вопр. рыболовства. Т. 4. № 1 (13). С. 93–102.
- Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. 1998. Ч. 1. М.: Отдел маркетинга АМБагро. 310 с.
- Alaska sockeye salmon culture manual. 1994. Ed.: McDaniel T.R., Pratt K.M., Meyers T.R. et al. // Spec. fish. Rep. N. 6. Alaska Dep. Fish Game. Div. Commer. Fish., Manag. Develop. Alaska. 40 p.
- Bootland L.M., Leong J.C. 1999. Infectious hematopoietic necrosis virus. In: Woo PTK, Bruno DW (eds.) Fish diseases and disorders. V. 3, CAB International. P. 57–112.
- Fish pathology Section Laboratory Manual. 2009. Edited by Meyers, T.R. Alaska Dep. Fish and Game. Spec. Publ. № 12. P. 5-1–5-42.
- Rucker R.R., Whipple W.J., Parvin J.R., Evans C.A. 1953. A contagious disease of salmon possibly of virus origin. US Fish Wildl Serv Fish Bull 54:35–46.
- Shchelkunov I.S., Shchelkunova T.I., Kupinskaya O.A., Didenko L.V., Bykovsky A.F., Olesen N.J. 2001. Infectious hematopoietic necrosis (IHN): the first confirmed finding in Russia. 10th Intern. Conf. EAAP. Diseases of fish and shellfish. Book of abstracts. Dublin. P. 44.
- Watson S.W., Guenther R.W., Rucker R.R. 1954. A virus disease of sockeye salmon, interim report. US Fish and Wildlife Service Special Scientific Report on Fisheries 138:1–36.