

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

на правах рукописи

Елеев Эльдар Леонидович

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ОСЕТРОВЫХ
РЫБ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И СПОНТАННОЙ
ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ**

06.02.01 Диагностика болезней и терапия животных,
патология, онкология и морфология животных

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор ветеринарных наук
доцент Грищенко Л.И.

Москва 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

1 ВВЕДЕНИЕ.....	4
2 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
2.1 Таксономия и общая характеристика герпесвирусов рыб.....	9
2.2 Болезни рыб, вызываемые предположительно герпесвирусами.....	13
2.3 Герпесвирусные болезни рыб.....	16
2.3.1 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусных болезнях лососёвых рыб.....	16
2.3.2 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусных болезнях сомовых рыб.....	22
2.3.3 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусной болезни угря.....	24
2.3.4 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусных болезнях карповых рыб.....	26
2.3.5 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусных болезнях осетровых рыб.....	32
2.4 Заключение по обзору литературы.....	35
3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
3.1 Материалы и методы.....	37
3.1.1 Схема постановки опытов.....	37
3.1.2 Клинические наблюдения.....	41
3.1.3 Патоморфологические исследования.....	41
3.1.4 Вирусологические и бактериологические методы исследования.....	43
3.1.5 Электронно – микроскопические исследования.....	44
3.1.6 Общее количество рыб, подвергнутых исследованиям.....	44
3.1.7 Статистические методы.....	44
3.2 Результаты собственных исследований.....	45

3.2.1 Опыт 1. Патоморфологические изменения при заражении сеголеток гибрида русского и сибирского осетров штаммом SK1/0406	45
3.2.2 Опыт 2. Патоморфологические изменения при заражении сеголеток сибирского осетра изолятом SIz/0311	64
3.2.3 Опыт 3. Патоморфологические изменения при заражении сеголеток сибирского осетра штаммом SK/0406.....	73
3.2.4 Патоморфологические изменения при естественном течении герпесвирусной болезни сибирского осетра.....	81
3.3 Обсуждение результатов	91
4 Заключение	97
5 Список сокращений	100
6 Список литературы	102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Осетроводство является важной отраслью мировой аквакультуры. При этом, как и при культивировании других видов рыб, важными лимитирующими факторами развития осетровых хозяйств являются болезни, из которых большую опасность представляют вирусные инфекции [200]. В настоящее время у осетров выделено около 10 видов вирусов, входящих в семейства Adenoviridae, Papovaviridae, Iridoviridae и Alloherpesviridae. Почти все они обнаружены в Северной Америке, главным образом в Канаде и США, а также в Европе [40, 82, 84, 87, 88, 101, 198].

В России до недавнего времени инфекционным болезням, особенно вирусным инфекциям осетровых рыб, уделялось мало внимания. Литературные данные показывают, что преимущественно изучались незаразные, инвазионные болезни и бактериальные инфекции [1, 6, 7, 13, 15, 32, 73]. Только в 2006 г., после выделения герпесвируса от сибирского осетра (*Acipenser baerii*) в одном из хозяйств Европейской части РФ, появились первые научные работы на данную тему [18, 19]. В течение последних лет изучены молекулярно-генетические, физико-химические и биологические свойства выделенного герпесвируса [8, 16, 68, 181]. Он отнесен роду Ictalurivirus семейства Alloherpesviridae порядка Herpesvirales. Наиболее хорошо он репродуцируется в перевиваемых культурах клеток сибирского осетра SSO-2 и белого осетра WSS-2 при температуре 15°C. Установлено, что данный вирус обладает тропизмом к эпителию общего (кожного) покрова и в наибольших количествах накапливается в слизи.

Степень разработанности темы. В зарубежной литературе описаны в основном клинические признаки и патологоанатомические изменения при герпесвирусных инфекциях американских осетровых рыб, а также имеются краткие сообщения о патогистологических изменениях (общего) кожного покрова у американских белого и тупорылого осетров (*Acipenser transmontanus*, *Acipenser brevirostrum*) [40, 198]. В тоже время, при герпесвирусной инфекции сибирского осетра и его гибридов патоморфологические изменения практически не изучены, а сведения о патогистологических изменениях в литературе отсутствуют, что

препятствует расшифровке патогенеза, раскрытию сущности данной болезни и определению ее нозологической принадлежности.

Цель работы - установить патоморфологические изменения и патоморфогенез при экспериментальной и спонтанной герпесвирусной инфекции осетровых рыб.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

— изучить патоморфологические изменения при герпесвирусной инфекции сибирского осетра, вызванной штаммом SK 1/0406 и изолятом SIz6/0311 в экспериментальных условиях;

— выявить патоморфологические изменения при герпесвирусной инфекции гибрида русского и сибирского осетров, вызванной штаммом SK 1/0406 в экспериментальных условиях;

— провести сравнительную оценку патогенного действия штамма SK 1/0406 и изолята SIz6/0311 при экспериментальном заражении сибирского осетра и его гибрида с русским осетром;

— изучить патоморфологические изменения при спонтанном течении герпесвирусной инфекции осетровых рыб в сравнении с её проявлением в экспериментальных условиях;

— раскрыть основные стороны патогенеза болезни и установить критерии для разработки ее диагностики.

Научная новизна исследований. Впервые дана наиболее полная характеристика клинико-морфологической картины, подробно изучены микроскопические изменения в органах при естественном течении и экспериментальном воспроизведении герпесвирусной инфекции сибирского осетра и его гибрида с русским осетром, раскрыты основные стороны патоморфогенеза болезни. Установлено, что изученные изоляты герпесвируса, выделенные от больных осетров из разных регионов, обладают аналогичными патогенными свойствами, вызывают у естественно больных и экспериментально зараженных рыб сходные патолого-морфологические изменения. Герпесвирусная инфекция сибирского осетра вызывает тяжелые дистрофические и некротические

изменения не только общего (кожного) покрова, но и внутренних органов: печени, почек, кишечника, что позволяет рассматривать ее как системную (генерализованную) форму болезни.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Полученные результаты комплексных патоморфологических исследований вносят определённый вклад в сравнительную патологию герпесвирусных инфекций животных разных систематических групп: рыб разных таксонов, а также высших позвоночных животных.

Научно обосновано и экспериментально подтверждено положение, о том что герпесвирусная инфекция сибирского осетра самостоятельная нозологическая единица – «герпесвирусная болезнь сибирского осетра», это позволяет включить её в национальный перечень опасных болезней животных. Установлены характерные клинические и патоморфологические признаки болезни: десквамативный дерматит, очаговую гиперплазию эпидермиса, стабильное появление узелковых утолщений кожного покрова в виде бляшек на разных участках тела и плавниках, пятнистых кровоизлияний в жучках, некротический распад эпидермиса и образование мелких язв, белковую дистрофию и фокальный некроз паренхимы печени, гиалиново-капельную дистрофию эпителия мочевых канальцев, катаральный энтерит спиральной кишки и др. Они являются базовыми для постановки предварительного диагноза. Окончательную диагностику герпесвирусной болезни следует осуществлять комплексно с обязательным выделением вируса и его идентификации существующими методами.

Полученные в результате исследований материалы используются в «Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» при проведении практических занятий и чтении лекций по дисциплинам: «Болезни рыб» и «Вирусология».

Методология и методы исследования. Для достижения цели и поставленных задач использованы общепринятые методические приёмы, позволяющие получить достоверные результаты. В работе применяли

современные вирусологические (постановка биопробы, вирусовыделение, расчёт титра вируса), гистологические, электронно-микроскопические методы исследований.

Положения, выносимые на защиту:

1. Течение, клинические признаки, патолого-анатомические и микроструктурные изменения при экспериментальной герпесвирусной инфекции сибирского осетра.
2. Патоморфологические изменения при естественном течении герпесвирусной инфекции.
3. Системное патогенное действие герпесвируса на организм сеголетков сибирского осетра и его гибрида с русским осетром.
4. Результаты комплексных исследований в диагностике и расшифровке патоморфогенеза герпесвирусной болезни осетровых рыб.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов исследований подтверждается выполнением работы на достаточно большом материале и современном методическом уровне. Научные выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, вытекают из результатов. Поставленные цели и задачи реализованы в полной мере.

Основные положения выполненной работы доложены: на Международной учебно-методической и научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии» (МГАВМиБ имени К.И. Скрябина, Москва, 2014 г.), IV Международной конференции «Проблемы иммунологии, патологии, охраны здоровья рыб и других гидробионтов» (Борок – Москва, 2015 г.).

Публикации. Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 6 научных работах, в том числе 3 статьи в журналах из перечня ВАК РФ («Российский ветеринарный журнал» – 2 статьи, «Труды ВНИРО» - 1 статья).

Личный вклад автора. Автор лично участвовал на всех этапах научных исследований: в получении исходных данных при постановке экспериментов, обследовании естественно больных рыб и интерпретации полученных результатов.

В двух опытах работа проводилась совместно со специалистами других профилей: вирусологами, специалистами по электронной микроскопии. Один из трёх опытов и все патоморфологические исследования автором выполнены самостоятельно. При выездах в рыбоводные хозяйства он принимал непосредственное участие в обследовании и оценке эпизоотической ситуации, собирал патматериал для лабораторных исследований.

Научные данные лично автором проанализированы и обобщены в результатах собственных исследований, заключениях и выводах.

Благодарности. Автор выражает благодарность научному руководителю Грищенко Л.И. за всестороннюю помощь, профессору кафедры радиобиологии вирусологии имени академиков А.Д. Белова и В.Н. Сюраина д.б.н., профессору Ярыгиной Е.Н., к.в.н., зав. кафедрой общей патологии Илиешу В.Д. за постоянные консультации; сотрудникам лабораторий: здоровья гидробионтов и биофизики ГНУ «ВНИИВВиМ», сотрудникам центра коллективного пользования электронной микроскопии ФГБУН «Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН» за помощь и поддержку в отдельных этапах работы.

Объём и структура диссертации. Диссертация состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, результаты собственных исследований, заключение, список литературы, приложения.

Она изложена на 123 страницах текста и включает 13 таблиц, 65 рисунков. Список использованной литературы состоит из 212 источников, из них 193 иностранных.

2 Обзор литературы

2.1 Таксономия и общая характеристика герпесвирусов рыб.

В настоящее время все герпесвирусы входят в порядок *Herpesvirales*, который объединяет три семейства: *Alloherpesviridae*, *Herpesviridae* и *Malacoherpesviridae*. Семейство *Herpesviridae* разделяется на три подсемейства: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* и *Gammaherpesvirinae*, включающих в себя все герпесвирусы рептилий, птиц и млекопитающих. В семействе *Alloherpesviridae* выделены все герпесвирусы рыб и лягушек, а семейство *Malacoherpesviridae* представлено двумя видами герпесвирусов - устрицы и морского ушка. В семейство *Alloherpesviridae* входят четыре рода: *Batrachovirus*, *Cyprinivirus*, *Ictalurivirus*, *Salmonivirus*. В целом современная классификация герпесвирусов представлена ниже [102].

Порядок *Herpesvirales*

Семейство *Herpesviridae*

Подсемейство *Alphaherpesvirinae*

Подсемейство *Betaherpesvirinae*

Подсемейство *Gammaherpesvirinae*

Семейство *Alloherpesviridae*

Род *Batrachovirus*

Вид *Ranid Herpesvirus 1* (герпесвирус лягушек 1)

Вид *Ranid Herpesvirus 2* (герпесвирус лягушек 2)

Род *Cyprinivirus*

Вид *Anguillid herpesvirus 1* (герпесвирус угревых 1)

Вид *Cyprinid herpesvirus 1* (герпесвирус карповых 1)

Вид *Cyprinid herpesvirus 2* (герпесвирус карповых 2)

Вид *Cyprinid herpesvirus 3* (герпесвирус карповых 3)

Род *Ictalurivirus*

Вид *Acipenserid herpesvirus 2* (герпесвирус осетровых 2)

Вид *Ictalurid herpesvirus 1* (герпесвирус иctalуровых 1)

Вид *Ictalurid herpesvirus 2* (герпесвирус икталуровых 2)

Род *Salmonivirus*

Вид *Salmonid herpesvirus 1* (герпесвирус лососёвых 1)

Вид *Salmonid herpesvirus 2* (герпесвирус лососёвых 2)

Вид *Salmonid herpesvirus 3* (герпесвирус лососёвых 3)

Семейство *Malacoherpesviridae*

Род *Aurivirus*

Вид *Haliotid herpesvirus 1* (герпесвирус морского ушка 1)

Род *Ostreavirus*

Вид *Ostreid herpesvirus 1* (герпесвирус устриц 1)

К настоящему времени неопределённым остаётся таксономическое положение герпесвируса осетровых 1 (*Acipenserid herpesvirus 1*), он не внесён в список Международного комитета по таксономии вирусов [102] и герпесвирус лососёвых 4 (*Salmonid herpesvirus 4*) [82].

Герпесвирусы являются одними из крупнейших и сложнейших по структуре вирусов. Геном герпесвирусного вириона (~200-250 нм в диаметре) содержит двухцепочечную ДНК, упакованную внутри икосаэдрального нуклеокапсида (капсид ~ 100 нм в диаметре), который окружён белковым тегументом, окутанным липидной мембраной (рис.1) [2, 212]. Минимальный исследованный геном рыб у *Ictalurid herpesvirus 1* содержит 76 генов, максимальный у *Cyprinid herpesvirus 3* – 155 [44, 82].

Цикл репликации герпесвирусов рыб лучше всего описан на примере вирусов семейства *Herpesviridae* [82,144]. Гликопротеины оболочки вириона прикрепляются к клеточным рецепторам, далее мембрана клетки и оболочка вириона сливаются, затем нуклеокапсид с тегументом проникает в цитоплазму. После чего, нуклеокапсид посредством микротрубочек транспортируется к ядерной поре, стыкуется с ней, и геном проникает в ядро. Потом в ядре происходит транскрипция генов и репликация генома (экспрессия генов). Пустые капсиды формируются в ядре, далее в них загружается ДНК. Вновь образованные нуклеокапсиды почкуются через ядерную мембрану, проникая в перинуклеарное

пространство и далее в цитоплазму, где происходит окончательное созревание вириона, при котором незрелые вирионы почкуются в везикулы, образующиеся в комплексе Гольджи и содержащие вирусные гликопротеины, затем нуклеокапсиды приобретают тегумент и оболочку. После транспортировки к клеточной поверхности везикулы и плазматическая мембрана сливаются и из клетки высвобождается зрелый вирион.

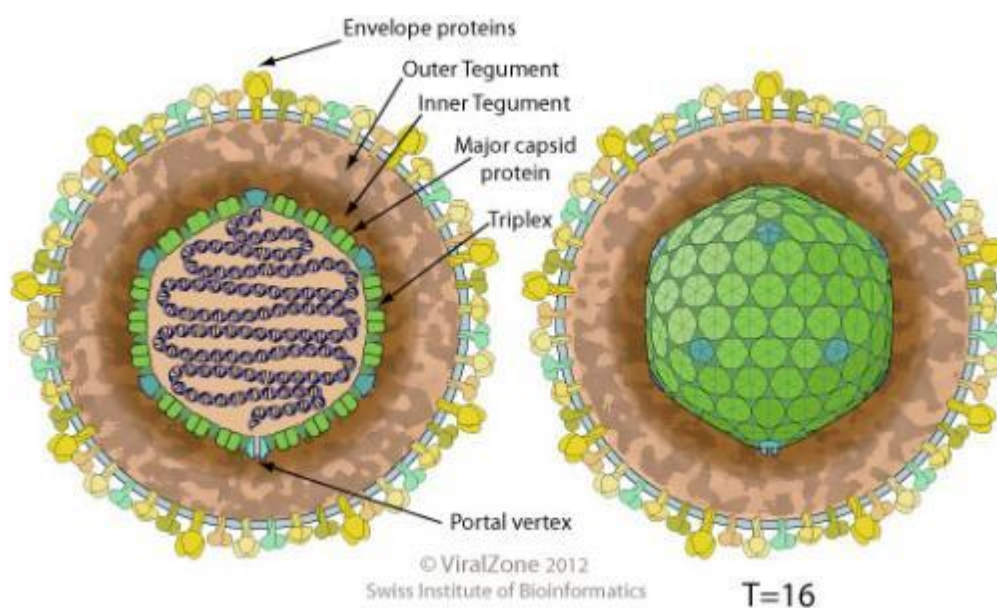


Рис. 1 – Строение вириона герпесвируса

Для герпесвирусов рыб характерна высокая специфичность к определённым видам рыб – хозяевам, что указывает на длительное совместное эволюционное развитие и хорошую приспособленность друг к другу. Примеры высокой патогенности герпесвирусов являются следствием нарушения равновесия в отношениях паразит – хозяин из-за интенсивной экономической деятельности человека [48].

Как правило, острое течение герпесвирусной инфекции у рыб с высокой смертностью наблюдаются при первичном инфицировании, при этом в случае условного выздоровления рыб вирус переходит в латентное состояние при котором возможны рецидивы болезни, со значительно меньшей летальностью. При этом первичная инфекция в естественном хозяине может вызывать и лёгкую форму заболевания, но при оптимальной температуре для репродукции вируса и

давлении стресс-факторов некоторые аллогерпесвирусы могут приводить к серьёзной эпизоотии с высокой заболеваемостью и смертностью [82]. Признанные виды [102] герпесвирусов рыб, вызываемые ими патологии и культуры клеток, используемые для выделения вирусов представлены в таблице 1.

Таблица 1- Наиболее значимые для аквакультуры виды герпесвирусов рыб

Название вируса (аббревиатура)	Вид рыбы-хозяина	Патологические изменения	Культуры клеток, ЦПЭ, оптимальная температура	Ссылки
Ictalurid HV1 (IcHV1, CCV)	Канальный сом, <i>Ictalurus punctatus</i>	Геморрагии, некроз кишечника, почек, печени. Высокая смертность молоди	ССО, синцитии, 30 ⁰ С	142, 202
Ictalurid HV1 (IcHV2, IcmHV)	Чёрный сом-кошка, <i>Ictalurus melas</i>	Геморрагии, некроз почек. Высокая смертность рыб всех возрастов	ЕРС, ВФ-2, синцитии, 25 ⁰ С	109, 113, 168, 188
Anguillid herpesvirus 1 (AngHV1, HVA)	Японский угорь, <i>A. japonica</i> , Европейский угорь, <i>A. Anguilla</i>	Геморрагии кожи, плавников. Смертность до 10%.	ЕК-1, ЕО-2, синцитии, округление клеток, 25 ⁰ С	33, 122, 171
Salmonid Herpesvirus 1, (SalHV1, HPV, SHV)	Радужная форель, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Патизменения выражены слабо.	RTG-2, CHSE-214, синцитии 10 ⁰ С.	96, 97, 203, 204
Salmonid Herpesvirus 2, (SalHV2, Oncorhynchus masou virus, OMV)	Сима, <i>O. masou</i> , Кижуч, <i>O. Kisutch</i> , Нерка, <i>O. nerka</i> , Кета, <i>O. keta</i> , Радужная форель, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Геморрагии, некроз почек, печени, папилломатоз. Смертность молоди до 80%	CHSE-214, RTG-2, синцитии, округление клеток, 15 ⁰ С	100, 120, 184, 209
Salmonid Herpesvirus 3, (SalHV3, Epizootic Epitheliotropic Disease virus, EEDV)	Озёрный голец, <i>Salvelinus namaycush</i>	Геморрагии глаз, кожи. Гиперплазия кожного эпителия. Смертность молоди до 100%	В культуре клеток не репродуцируется	64, 127, 137

Продолжение таблицы 1

Название вируса (аббревиатура)	Вид рыбы-хозяина	Патологические изменения	Культуры клеток, ЦПЭ, оптимальная температура	Ссылки
Cyprinid HV 1 (CyHV1 CHV)	Обыкновенный карп, <i>Cyprinus carpio</i>	Геморрагии, папилломы. Смертность мальков до 90%	ЕРС, FHM, вакуолизация округление клеток, 15-20 ⁰ С	27, 65, 94, 173,
Cyprinid HV2 (GFHNV, HVHN)	Золотая рыбка, <i>Carassius auratus</i> , Серебристый карась, <i>Carassius gibelio</i>	Некроз гемопозитической ткани почек, печени, кишечника, селезёнки. Смертность до 100% рыб всех возрастов	FHM, ЕРС, KF-1, округление, вакуолизация, 15-20 ⁰ С	44, 117, 132, 172,
Cyprinid HV3 (KHV)	Обыкновенный карп, карп кои, <i>Cyprinus carpio</i>	Слияние жаберных лепестков, некроз гемопозитической ткани почек, печени, кишечника	KF-1, ССВ, CFC, вакуолизация, 20 ⁰ С	21, 28, 63, 210
Acipenserid herpesvirus 1 (AciHV1, WSHV-1)	Белый осётр, <i>Acipenser transmontanus</i>	Гиперплазия, некроз эпидермиса. Смертность мальков (1-3 гр) до 35%	WSSK-1, синцитий, 15 ⁰ С	74, 88, 166
Acipenserid herpesvirus 2 (AciHV2, WSHV-2)	Белый осётр, <i>Acipenser transmontanus</i> , Тупорылый осётр, <i>Acipenser brevirostrum</i> , Сибирский осётр, <i>Acipenser baeri</i>	Гиперплазия кожного эпителия, геморрагии, бледность внутренних органов. Смертность молоди сибирского осетра до 100 %	WSS-2, WSSK-1, SSO-2, округление клеток, разрушение монослоя, 15 ⁰ С	18, 40, 57, 68, 198

2.2 Болезни рыб, вызываемые предположительно герпесвирусами.

Большое количество герпесвирусов рыб не удалось изолировать в культуре клеток. Обнаружить возбудителя вирусной инфекции в таких случаях возможно только с помощью электронно-микроскопический исследований поражённых тканей (таб. 2).

Таблица 2- Герпесвирусы рыб, обнаруженные только с помощью электронной микроскопии

Название вируса	Вид рыбы - хозяина	Патологические изменения	Ссылки
Esocid HV 1 (EsHV1)	обыкновенная щука, <i>Esox Lucius</i>	гиперплазия эпидермиса	205
Pleuronectid HV1 (PIHV)	Тюрбо, <i>Scorptalamus maximus</i>	- -	37, 167, 185
Golden ide HV	Язь, <i>Leuciscus ide</i>	- -	139, 183
Pacific cod HV	Тихоокеанская треска, <i>Gadus macrocephalus</i>	гиперплазия, папилломатоз	140, 141
Sheatfish HV (SHV)	Обыкновенный сом, <i>Silurus glanis</i>	гиперплазия, папилломатоз	182
Rainbow smelt HV	Азиатская корюшка, <i>Osmerus mordax</i>	карцинома	148
European Smelt HV	Европейская корюшка, <i>Osmerus erelanus</i>	гиперплазия, папилломатоз	25
Smooth dogfish HV	Американская кунья акула, <i>Mustelus canis</i>	гиперплазия, папилломатоз	130
Angelfish HV	Скалярия высокая, <i>Pterophyllum altum</i>	геморрагии кожи	143
Red striped rockfish HV	Морской окунь, <i>Sebastes proriger</i>	геморрагии, некроз печени	91

В Канаде при исследовании кожных поражений обыкновенной щуки, *Esox Lucius* голубовато-беловатого цвета, шероховатых на ощупь, выявили гиперплазированный эпидермис, сильно гипертрофированные отдельные клетки, увеличенные ядра с типичными для герпесвируса капсидами диаметром 100 нм [205]. В Великобритании и Дании, в крупных эпителиальных клетках кожи и жабр Тюрбо, *Scorptalamus maximus* в эпидермисе кожи были найдены вирусные частицы аналогичные по морфологии герпесвирусам [167]. У больных рыб наблюдали апатию, истощение, асцит, иногда выпадение прямой кишки [185].

При электронно-микроскопических исследованиях гиперплазированного эпителия кожи головного, туловищного отдела и плавников больных язей,

Leuciscus ide обнаружены герпесвирусоподобные частицы. Поражения выглядели в виде узелков с булавовидную головку. В клетках наблюдали увеличенные ядра, с краевым стоянием хроматина и нуклеокапсиды 90-113нм. в диаметре, в цитоплазме зрелые вирионы достигали 160-180 нм. [139,183].

В гипертрофированных клетках гиперплазированного эпидермиса и опухолях тихоокеанской трески, *Gadus macrocephalus* выявлены частицы сходные с вирусами герпеса [140, 141], аналогичные частицы найдены в папилломах обыкновенного сома, *Silurus glanis* [182]. У Европейской корюшки, *Osmerus evelanus* в папилломах кожи отмечали герпесвирусоподобные нуклеокапсиды 100нм. и вирионы 200-350 нм. в диаметре [25, 115].

У азиатской корюшки, *Osmerus mordax* в ядрах клеток опухолей с признаками карциномы наблюдали гранулированный хроматин, который предположительно является вирусным ДНК. [148].

Впервые герпесвирусоподобные частицы обнаружены у вида хрящевых рыб – американской куньей акулы, *Mustelus canis* в узелках кожи округлой или овальной формы от 1 мм до 1 см. В поражённой ткани отмечали дегенерацию клеточного эпидермиса и акантолиз [130].

Нуклеокапсиды диаметром 100 нм. по морфологии аналогичные герпесвирусным наблюдали у скалярий, *Pterophyllum altum*, при этом у рыб отмечали нарушение координации движения, иногда спиралевидное плавание, зависание у поверхности воды, кровоизлияния в коже, бледность жабр, увеличенные печень и селезёнку [143].

В Канаде при исследовании кожи и внутренних органов больных морских окуней, *Sebastes proriger* выявляли вирусные капсиды 100нм в диаметре с тельцами включениями типа Каудри. Патологоморфологические изменения включали: множественные кровоизлияния на кожи и в печени, многоядерные синцитии гепатоцитов и мультифокальный некроз гепатоцитов [91].

2.3 Герпесвирусные болезни рыб:

2.3.1 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусных болезнях лососёвых рыб

В настоящее время в литературных источниках имеются данные о четырёх видах герпесвирусов лососёвых, из них три признаны международным комитетом по таксономии вирусов [101]. Выявлены герпесвирусы в США, Японии, Европе, России. Восприимчивыми видами являются: радужная форель, стальноголовый лосось, атлантический лосось, чавыча, кета, нерка, кижуч, озёрный голец.

Наиболее остро герпесвирусные болезни протекают у молоди, кумулятивная гибель которых может при SalHVD2 и SalHVD3 достигать 100% [184, 138]. При SalHVD1 и SalHVD4 смертность наблюдается из-за большей восприимчивости заражённых рыб к вторичным инфекциям [38]. Для всех герпесвирусов лососёвых характерна высокая репродукция при низких температурах от 5 до 15 °С, в зависимости от вида вируса. Клинические проявления и патогенез отличаются при разных герпесвирусных инфекциях лососёвых, при этом общим является преимущественное поражение кожи, кроме SalHVD1, при которой основным органом мишенью отмечается.

Герпесвирусная болезнь лососёвых, возбудитель - герпесвирус лососёвых 1 типа. Впервые Herpesvirus salmonis (HPV) выявлен в 1971-75 гг. у нерестящейся радужной форели *Oncorhynchus mykiss* в США в штате Вашингтон [203, 204]. Через 10 лет в Калифорнии у стальноголового лосося был выделен Steelhead herpesvirus (SHV) [60, 97], который также как и HPV отнесён к 1 типу вида Herpesvirus salmonis [58], отнесённый позднее к роду Salmonivirus [102]. У SalHV1 как и других членов семейства *Alloherpesviridae* узкий круг хозяев [49]. Восприимчивы к вирусу помимо радужной форели и стальноголового лосося чавыча, семга. Речная форель и кижуч не восприимчивы [60]. HPV выделен из яичников и семенной жидкости радужной форели. Наличие вируса в яичниках и семенной жидкости указывает на опасность при вертикальной передаче. Предполагается также горизонтальная (через воду) передача инфекции [59]. Тяжесть болезни уменьшается с возрастом.

Диаметр капсида 90-95 нм. икосаэдрической формы, вирион- 230 нм [96, 97]. Особенность вируса в репликации вируса при температуре 10⁰С и ниже. Синцитии образуются даже при 0⁰С [96]. Вирус размножается только в клеточных линиях лосося или родужной форели RTG-2, CHSE-214 [97]. В клетках тканевых культур наблюдаются внутриядерные включения типа Каудри [60] и образование синцития. Репликация наблюдалась при 5-10⁰С. При 15С размножение вируса замедлено, при более высокой температуре репликация прекращалась [97].

Явные клинические признаки наблюдались только в экспериментах после инъекции вируса малькам форели. На 16 сутки наблюдали первые признаки - мукоидные нити из анального отверстия, на 21 день пучеглазие и увеличенное брюшко, на 25 день первая гибель. У больных рыб наблюдались отказ от корма, вялость, нарушение координации движения, некоторые мальки лежали на боку и на спине. Пигментация у некоторых мальков была аномально тёмная, а жабры бледные. В области глаз кровоизлияния, экзофтальм. Внутренние органы погибающих рыб были бледными и дряблыми. В брюшной полости наблюдалась асцитная жидкость, у некоторых она была студенистая. Печень пятнистая, почки бледные, передний отдел ЖКТ (желудок и двенадцатиперстная кишка) лишён пищи [203].

Гистопатологические изменения выражались в вакуолизации цитоплазмы клеток печени, десквамации эпителиальных клеток кожи, бледных пятнах, отёчности, гипертрофии и кровоизлияниях в жабрах некоторых образцов [203]. Мышечные волокна сердца с утратой поперечно-полосатой исчерченности. В головном мозге от незначительного до умеренного отёк. Признаков патизменений в репродуктивных органах не наблюдалось. В переднем отделе кишечника патизменений не выявлено, а в заднем – явно выражены: десквамация, некроз слизистой. В селезёнке – отёк. В печени наибольшие патизменения: отёк, некроз, кровоизлияния. В гепатоцитах вакуолизация цитоплазмы и диффузный некроз, дилатация синусоидов. Тяжесть изменений в почках увеличивалась от переднего отдела к заднему. Преимущественно в заднем отделе в просвете канальцев серозный экссудат, обломки клеток. Клубочки слегка отёчны. В поджелудочной

железе наблюдалась синцитий образование. В некоторых случаях синцитии состояли из 20-30 ядер. В скелетных мышцах у некоторых рыб кровоизлияние и некроз. В крови 10-13% незрелых эритроцитов[96].

При введении вируса парентерально, обширные дегенеративные изменения и значительные количества вируса в почках, печени, и кишечнике показывают что инфекция носит генерализованный и системных характер [203].

Для постановки диагноза применяется реакция нейтрализации, ПЦР [59].

Герпесвирусная болезнь лососевых, возбудитель – герпесвирус лососёвых 2 типа. Впервые SalHV2 описан Sano T (1976). В 1978 г. вирус выделен из овариальной жидкости Симы, *Oncorhynchus Masou* (OMV) в Японии [59, 178, 184]. В дальнейшем герпесвирусы выделяли от других видов лососёвых рыб: NeVTA, [20,174, 179]; YTV, [20, 175, 179]; OKV, [20, 126]; CSTV или COTV, [169], CHV[125]; RKV [187]; RHV, [169]. При этом все штаммы имеют сходные с OMV молекулярные, генетические и патогенные свойства, что даёт основание относить их к одному виду *Salmonid Herpesvirus 2* [24].

Болезнь (OMVD) имеет две формы: острую, диссеминирующую – первичная инфекция и опухолевую - рецидивирующую. Острая форма – проявляется у молоди до 5 мес. и может вызывать в экспериментальных условиях, при заражении методом ванн, смертность у нерки до 100% [208], кеты – 83%, кижуча – 30%, радужной форели – 29% [121]. SalHV2 энзоотична в Японии, при этом есть вероятность его присутствия в реках Камчатки у тихоокеанских лососей [208].

Чувствительны к вирусу клеточные линии: CHSE-214, RTG-2, SSE-5, BV, EPC ,FHM, RTG-2, KO-6, СНН-1 [118, 125, 128, 207]. Оптимальная температура для репродукции вируса 10-15⁰С[124, 125]. ЦПЭ выражается в округлении клеток и образовании гигантских синцитий [151, 207, 208].

После заражения при температуре 12-15⁰С [20, 208] первые мальки возрастом 1 мес. погибают через 10-12 дней. В дальнейшем в течение 4 месяцев погибает до 80% рыб. С возрастом смертность снижается. Через 4 мес. после заражения у 12-100% выживших кеты, кижуча, симы, радужной форели

отмечаются эпителиальные опухоли, сохраняющиеся в течении 1 года после заражения [169, 184]. У одной из 52 рыб отмечалась опухоль почек в 10,5 месяцев после инфицирования, которая состояла из эпителиальных клеток. Скорость образования опухолей не зависит от возраста рыб. Гистологические исследования показали, что они состоят из аномально пролиферирующих эпителиальных клеток. Впервые в опухолях кеты был замечен онкогенный характер OMV [120, 209, 184].

При остром течении болезни у поражённых рыб наблюдается: апатия, истощение, экзофтальм, петехии под нижней челюстью и на поверхности тела, темнение пигментации, образование язв, которые захватывают подлежащую жировую ткань и мускулатуру, жабры бледные, с очагами кровоизлияний [59, 82, 100, 121, 175, 184, 189, 208].

Во внутренних органах наиболее тяжёлые поражения наблюдались в селезёнке и почках, отмечалась анемичная печень с белыми пятнами. В кишечнике кровоизлияния и выделение слизи эпителием. У всех исследованных рыб в селезёнке отмечались некротические фокусы с геморрагиями в селезёночной пульпе, в клетках гипертрофированные ядра, маргинальный гиперхроматоз, кариорексис, кариопикноз и в результате фрагментация клеток. В почках очаги некроза с кровоизлияниями. В кишечнике геморрагии с некротическими очагами в слизистой и подслизистой оболочках, разрушение ворсинок, в пилорических придатках кровоизлияния. В поджелудочной железе отмечен некроз ацинарных клеток. В язвенных поражениях кожи, эпидермис разрушен. В печени очаги некроза, образование синцитиев. Сердечная мышца отечна [100, 184].

При электронно-микроскопическом исследовании в ядрах наблюдали нуклеокапсиды гексагональной формы диаметром 115-120 нм и зрелые вирионы в цитоплазме диаметром 220-240 нм [100].

Для диагностики латентной формы инфекции у рыб маточного стада отбирают овариальную жидкость после нереста. При острой форме болезни на

исследование берут печень, почки, селезёнку, применяют методы ИФА, ПЦР, РН [82].

Меры профилактики включают: соблюдение требований гигиены и санитарии, дезинфекция оборудования и инвентаря, использование УФ-стерилизации, озонирования или электризации использованной воды. Отбор незаражённых рыб маточного стада, мониторинг молоди, манипуляции с температурой и вакцинация [206, 207].

Герпесвирусная болезнь лососевых, возбудитель - герпесвирус лососёвых 3 типа. Болезнь - Epizootic Epitheliotropic Disease (EED), вызванная вирусом SalHV3 была причиной массовой гибели молоди Озёрного гольца, *Salvelinus namaycush* в регионе больших озёр в США с 1983 г [64]. Болезнь специфична для озёрного гольца, кумжа, радужная форель, и атлантический лосось резистентны к болезни [64, 127, 137,]. Вспышки EED происходят в аквакультуре обычно весной при температуре воды 6-15⁰С и часто связаны с повышенным стрессом рыб. Кумулятивная гибель в течении нескольких месяцев может составлять до 100% [138]. При заражении сеголетков первые клинические признаки наблюдали через 7 дней после заражения при температуре воды 12⁰С и 9 дней при 9⁰С. Гибель всех рыб отмечалась в течении 15 дней [137].

Продолжительность эпизоотии 2-3 месяца.

У больных рыб отмечали атаксию, плавание по спирали, чередование периодов вялости с периодами возбуждения, рыбы собирались на поверхности воды и учащённо дышали. У многих особей наблюдали кровоизлияния в области глаз, плавников и брюшка [64, 82]. В местах поражения кожи были заметны сероватые пятна, часто в этих местах развивалась сапролегния. Также наблюдалась дегенерация плавников. При аутопсии отмечалась небольшая припухлость почки. При гитопатологическом исследовании обнаруживали гиперплазию, гипертрофию и некроз эпидермальных клеток. В почках выявлялась дегенерация почечных канальцев, в синусоидах печени и в почках присутствуют макрофаги с обломками клеток. В гепатоцитах печени большое количество

вакуолей. В жабрах выявлен отёк жаберных пластинок [137]. Эозинофильные тельца включения наблюдались в поражённых эпидермальных клетках [64].

Вирус не репродуцируется в лососёвых клеточных линиях [64, 137], поэтому для его выявления используются методы электронной микроскопии, гистологии, и ПЦР [77, 82, 127]. Капсид вируса 100-105 нм., вирион 220-235 нм [63].

Герпесвирусная болезнь лососевых, возбудитель - герпесвирус лососёвых 4 типа. SalHV4 является причиной развития папилломатоза атлантического лосося. Болезнь регистрировалась в лососёвых хозяйствах Скандинавских стран, Шотландии и в дикой природе у атлантических лососей с 1950 годов [38, 201]. Также зафиксированы вспышки болезни на Северо-западе России [180]. ASPV наблюдалась у двухлеток атлантического лосося, когда температура воды достигает 10-15⁰С и при смолтификации рыб [29, 38]. При температуре воды ниже 10⁰С папилломы дегенерируют. Заболеваемость папилломатозом может достигать 85%, при этом смертность отмечается до 50% из-за вторичных инфекций [38, 39].

У больных рыб обнаруживали хорошо выраженные наросты достигающие 1см в диаметре и 5 мм в высоту. Эти образования могут возникать на любом участке тела рыб, но преимущественно они образуются в области хвостового стебля. Папилломы могут сливаться в конгломераты [29]. При вскрытии отмечали спленомегалию, светлые пятна в печени, гиперемии слизистой задней кишки. Патолого-гистологические исследования указывают на доброкачественный характер папиллом, которые образованы клетками гиперплазированного эпидермиса. При понижении температуры наросты слущиваются и на их месте часто образуются язвы, которые имеют кратерообразную форму и проникают в мускулатуру до костей [29, 38, 39]. При незначительных поражениях может наблюдаться реэпителизация кожного покрова. Для постановки диагноза применяются гистологические методы. В то же время, Glenney et al. 2016 в своей работе показал применение метода кросс реактивного ПЦР для SalHV4, а также продемонстрировал новый вид вируса

герпеса SalHV5 у озёрного гольца [76]. SalHV5 также как и SalHV4 могут быть признаны Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) после получения более полных данных о его молекулярных свойствах, патогенезе и эпизоотологических данных болезни.

2.3.2 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусной болезни сомовых рыб

У сомовых рыб выявлено две герпесвирусные болезни: герпесвирусная болезнь канального сома, выделенного впервые в США в 1968 г. и герпесвирусная болезнь чёрного сома, выделенного в Италии в 1994 г.

Герпесвирусная болезнь сомовых, возбудитель – герпесвирус сомовых 1 типа. Впервые герпесвирус выделен в 1968 г. у канального сома, *Ictalurus punctatus* в период массовой гибели рыб в рыбоводных хозяйствах в США [67, 156]. Болезнь (IcHVD 1) широко распространена в индустриальной аквакультуре канального сома южных штатов США и наносит большой экономический ущерб. Наиболее остро болезнь протекает у молоди до 4 месячного возраста в период с июня по сентябрь при температурах воды 25-30⁰С [83, 156, 158]. Во время вспышки эпизоотий гибель молоди может достигать 90% в течение двух недель. Тяжесть болезни усугубляется действием стресс-факторов и осложнением секундарными инфекциями [84, 159]. Взрослые рыбы также болеют [89], но серьёзные вспышки всегда наблюдаются у молоди возрастом до 1 года. В экспериментах показано, что на устойчивость молоди к IcHVD 1 влияет титр антител у производителей маточного стада [86] и пассивный иммунитет, который формируется при введении сыворотки, полученной от инфицированных рыб [82]. Антитела к IcHV1 в крови рыб сохраняются более 2 лет после заражения [111]. Передача инфекции может происходить горизонтальным и вертикальным путями, при этом источником болезни могут быть рыбы, у которых инфекция протекает в латентной форме [66,161]. В неблагополучных хозяйствах, где болезнь внешне не проявляется, до 10-20% сеголеток канальных сомов являются носителями вируса [36, 66, 82]. Для выделения CCV используется клеточная линия ССО, полученная из яичников канального сома [84,111].

Заболевание характеризуется острым течением, коротким инкубационным периодом - 32-72 часа при 30⁰С, и быстро развивающейся вирусемией [142, 160]. Терминальное состояние при оптимальных температурах наступает через 48-72 часа [157].

При остром течении болезни рыбы плавают хаотично, конвульсивно, иногда вращаются вокруг своей оси, опускаются на дно, дыхание замедляется, затем быстро погибают. Часто отмечается асцит, пучеглазие, бледность или гиперемия жабр, геморрагии у основания плавников и по всей коже, особенно на вентральной поверхности. Селезёнка увеличена, тёмно-красная. Желудок и кишечник лишены пищи, но заполнены мукоидным секретом. Гемопозитическая ткань почек отёчна, с наличием обширных участков некроза, увеличено количество макрофагов. В экспериментах, через 48 часов после заражения, наиболее сильные поражения отмечаются в печени, почках, кишечнике, селезёнке. [163]. Через 72 часа отмечен некроз и обширные кровоизлияния. Отёки и некроз в подслизистой и в ворсинках ЖКТ, слущивание кишечного эпителия [157,160]. Наиболее сильно поражена задняя почка, в которой наблюдалась вакуолизация и кариорексис эпителия канальцев. В печени отмечены отёк, некроз и кровоизлияния, печёночные клетки имеют эозинофильные цитоплазматические включения. Селезёнка перегружена эритроцитами, лимфоидной ткани становится меньше. Самые высокие титры вируса были в почках и кишечнике [156]. В ЦНС вирус может выделяться на поздних стадиях инфекции [163]. В мозге и мышцах микроскопических изменений не наблюдалось [160]. В начале инфекции ядра базофильные, через 2 часа наблюдалась маргинация хроматина и образования синцития, через 3-4 часа внутриядерные тельца включения типа Каудри, отличавшиеся гранулированностью и неправильной формой. Высокая смертность молоди. Количество синцитиальных клеток увеличивалось к 6 часу, начинался распад ядер и базофильные сгущения появлялись в цитоплазме [202].

При электронно-микроскопическом исследовании обнаруживали капсид диаметром 95-105 нм, вирион- 175-200 нм. 162 капсомера [156, 202]. Окончательный диагноз ставится на основании ПЦР [31, 85].

Герпесвирусная болезнь сомовых, возбудитель - герпесвирус сомовых 2 типа. Герпесвирус, *Ictalurus melas* HV выделен 1994 г. в Италии на рыбной ферме от взрослых Европейских сомов, *Ictalurus melas* [109]. IcmHV2 был причиной серьёзных вспышек болезни, вызывавших большие потери в небольших хозяйствах в Италии [168]. Hedrick R., 2003 показал, что IcmHVD энзоотична в Европе и не регистрируется в Северной Америке. К этому герпесвирусу оказались восприимчивы канальные сомы, *Ictalurus punctatus*. При этом Европейский сом более устойчив к IcmHV1 [162]. IcmHV размножается в клеточных линиях сомовых, карповых, центрарховых и более вирулентен для взрослых рыб [188]. Для выделения вируса используют клеточные линии BF-2 и EPC [109].

При экспериментальном заражении рыб через воду при температуре 20 °C гибель рыб наступала через 2 суток и составляла 80-90%. У заболевших рыб естественные движения чередовались с неожиданными спиральными движениями, вертикальными зависаниями, жабры анемичные, в основании плавников и на брюшке точечные кровоизлияния. Печень анемична, Селезёнка увеличена, с петехиальными кровоизлияниями. Почки являются - мишенью вируса. Они рыхлые, элементы гемопоэтической ткани и почечных канальцев в состоянии некроза [109, 113]. Желудок наполнен жидкостью, кишечник без поражений. Исследования генома вируса показали близкое родство к IcmHV1 [43, 147]. При электронно-микроскопических исследованиях наблюдались форма и размер капсидов и вирионов типичные для вирусов герпеса: капсиды – 107 нм., вирионы 227 в диаметре [188].

2.3.3 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусной болезни угря

Герпесвирусная болезнь угря, возбудитель - герпесвирус угря 1 типа.

Герпесвирус выделен у Японского угря, *Anguilla japonica* и Европейского угря, *Anguilla Anguilla*, в период вспышек болезни в 1985 г. в системах с

замкнутым циклом водоснабжения в Японии [171]. В то же время, выделить AngHV1 в Европе удалось только в 1999 г после импорта чувствительной линии клеток ЕК-1 [42, 50, 71]. В дальнейшем неоднократно сообщались данные о выделении вируса от Европейского и Японского угрей в Восточной Азии, Японии, Европе [34, 55, 108]. Иммунологически и генетически Европейский и Японский герпесвирусы похожи и считаются одним видом вируса *Anguillid herpesvirus 1*, включённым в род *Cyprinivirus* [33, 197]. AngHV1 играет существенную роль в снижении численности природной популяции находящихся под угрозой исчезновения Европейских угрей [55]. К вирусу восприимчивы рыбы всех возрастов. Как правило, смертность не высокая, не более 10%, однако при высокоинтенсивном производстве, оптимальной для репродукции вируса температуре (25-26⁰С), прессинге стресс-факторов и осложнении вторичными инфекциями смертность повышается [71, 95, 171].

Эпизоотические вспышки болезни регистрируются при температуре 23-26С. После инфицирования через воду первые симптомы наблюдаются через 3 дня (геморрагии в вентральной области головы), на 7 день кровоизлияния появлялись в области жаберных крышек, на 11 день - кровоизлияния по всей голове и в области грудных плавников. В дальнейшем геморрагии обнаруживались по всей вентральной поверхности тела до хвоста. Наиболее выраженные клинические признаки у наибольшего количества рыб (27%) наблюдались на 14 день после инфицирования [155]. Они проявлялись апатией, отказом от корма, покраснением головы, позднее кровоизлияния на голове, жаберных крышках и на брюшке. Иногда на коже образуются везикулы. В экспериментальных инфекциях изолят летальных эффектов не вызывал, но повреждения кожи наблюдали. [26, 119, 122,].

При вскрытии обнаруживали у заражённых угрей различной степени эритема на коже и жабрах, десквамация эпидермиса, язвенные поражения кожи [71, 122, 171]. В жабрах частичное слипание жаберных пластинок, очаги некрозов [119]. Печень селезёнка и почки бледные, переполненный желчный пузырь, геморрагии в брызжейке, асцит. При гистологическом исследовании в печени отмечена атрофия гепатоцитов, набухание эпителиальных клеток почечных

канальцев, уменьшение эритроцитов в селезёночной пульпе и синусоидах. Гистопатологических изменений в головном мозге не обнаружено. В поражённых клетках наблюдали кариопикноз и кариорексис, и вакуолизацию цитоплазмы, митохондрии без крист, отмечался некроз эндотелиальных клеток [129]. N-S Lee, J Kobayashi and T Miyazaki (1999) показали, что AngHV1 имеет тропизм к фиброцитам и фибробластам, что свойственно только *H. anguillae*. В этих клетках наблюдались вирусные частицы.

Электронно-микроскопические исследования показали, что изолированный вирус имел типичную для герпесвируса морфологию и размер нуклеокапсида (100 нм.) и вириона (200 нм.) [129]. Для выявления AngHV1 в настоящее время используются иммуногистохимические методы и метод FISH, но наиболее распространёнными являются чувствительные анализы ПЦР [52, 53].

2.3.4 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусной болезни карповых рыб

У карповых рыб установлены следующие герпесвирусные болезни: герпесвирусная болезнь карпа 1 типа, некроз гемопоэтической ткани золотой рыбки, герпесвирусная болезнь карпа кои.

Герпесвирусные болезни карповых регистрируются во многих странах мира: Китае, Северной-Америке, Филиппинах, Японии, Европе, Австралии, Индонезии, Африке, Южной-Америке. Восприимчивыми видами являются: обыкновенный карп (*Cyprinus carpio*), серебристый карась, (*Carassius gibelio*), золотая рыбка (*Carassius auratus*). При оптимальных для репродукции вируса температурах кумулятивная гибель молоди, инфицированной герпесвирусом достигает 90-100%. При Cyprinid HVD 1 и Cyprinid HVD 3 наиболее выражены патизменения в коже, при Cyprinid HVD2 – в почках и селезёнке.

Герпесвирусная болезнь карпа, возбудитель – герпесвирус карпа 1 типа. Болезнь имеет широкое распространение и известна в мире как оспа карпов. В Европе оспа карпа известна со средних веков, при этом её этиология долго не была изучена [27]. Предположение о вирусной природе оспы карпов впервые высказано в 1907 г. [133] и только в начале 60-х годов Schubert G. H (1964) с

помощью электронной микроскопии выявил и описал морфологию возбудителя болезни – герпесвируса. Вирус впервые культивирован и описан в Японии у декоративных карпов в 1980-х годах [23, 172]. Наиболее восприимчивыми видом являются обыкновенный карп (*Cyprinus carpio*) и его разновидности. Оспа карпов появилась в Северной Америке после импорта золотого язя из Германии [193].

Для выделения вируса используют клеточные линии ЕРС, FHM, CE-1, МСТ [170, 173, 94, 82]. ЦПЭ развивается в течение 5 дней после инокуляции. Проявляется вакуолизацией и округлением клеток. [82]. В клеточной линии наибольшая репликация при температурах 15 и 20С, средняя при 10 и 25С, при 30 ЦПЭ не наблюдалась [82]. Наиболее выраженный ЦПЭ при 15С. Использование непрямого метода флуорисцирующих антител показало высокую экспрессию вирусного генома во внутренних органах на ранних стадиях инфекции и в эпидермисе на поздних стадиях [94].

В СуНV1 может быть причиной системной болезни и высокой смертности мальков. Кумулятивная гибель может достигать 90% [94]. Вирус более вирулентен до 2 недельного возраста [27]. У молоди, выжившей после первичного инфицирования, инфекция принимает латентную форму [44]. Первые симптомы включают: нарушение плавательных движений, у отдельных рыб отмечены спиральные движения, потемнение кожи, экзофтальм, вздутие брюшка, покраснение жаберных крышек и тела. У мальков наблюдались мягкие и упругие доброкачественные наросты (неоплазмы) в коже. У больных рыб отмечают следующие гистологические изменения: обширный некроз паренхимы печени, почек и собственной пластинки слизистой оболочки кишечника. В печёночных клетках обнаруживаются ядерные тельца - включения Каудри, иногда отмечают вакуольную дистрофию, некротический гепатит и некротический нефрит [94].

У оставшихся в живых после заражения и заражённых взрослых СуНV1 отмечали атрофию иммунокомпетентных органов [17], также появлялись папилломы [177], развитие которых отмечали через 7.5 месяцев [94]. При гистологическом исследовании обнаруживают гиперплазию кератиноцитов, в которых наблюдается маргинация хроматина и эозинофильные внутриядерные

включения. Папилломы сохраняются и развиваются при 15 °С и регрессируют при 25 °С. По данным Hongda Lu et al. (2009) рост папиллом происходит за счёт пролиферации клеток. Растущие папилломы постепенно распространяются на прилегающие участки, занимая иногда две трети поверхности тела. Цвет папиллом серовато-белый. Гистологически папилломы характеризовались многократным утолщением эпидермиса за счёт прогрессирующего разраста и гиперплазии эпителия. Внутри папиллом часто происходит распад клеток и очаговый некроз тканей с образованием пустых пространств. В опухолевых клетках обнаруживают деформацию и лизис ядер, маргинацию хроматина, органеллы в цитоплазме уменьшены или отсутствуют. Некроз клеток в опухоли наблюдается когда опухоли регрессируют при увеличении температуры [93]. Часто папилломы могут возобновляться после регрессии. Секвенирование генома показало что вирус CyHV1 имеет онкоген JUNB, который может быть частично ответственный за образование опухолей [44]. Предварительный диагноз на CyHV1 ставится на основании характерных симптомов. Диагноз может быть подтвержден методом ИФА или ПЦР [81]. При электронной микроскопии выявляются нуклеокапсиды – 113±9 и вирионы - 190±27 нм.[173].

Метод *in situ* гибридизации демонстрирует присутствие латентного вируса в краниальных и спинальных нервах и в подкожной клетчатке [93, 172].

Некроз гемопоэтической ткани золотой рыбки, возбудитель – герпесвирус некроза гемопоэтической ткани золотой. Jung, Miyazaki (1995) впервые описали тяжёлую болезнь культивируемых золотых рыбок, *Carassius auratus* обозначенный как герпесвирусный некроз гемопоэтической ткани (HVHN). Эпизоотии имели место в Японии в 1992-1993 годах. Вспышки болезни также наблюдались в США [149] Великобритании [110], Венгрии [152], Чехии [191], Франции [69], Австралии [80, 103] и Китае [99]. В настоящее время вирус широко распространён в аквакультуре многих странах [54, 92, 116]. Очень чувствительным видом к данному вирусу помимо золотых рыбок является серебристый карась, *Carassius gibelio* [51, 81, 117, 152]. Обыкновенный карп, *Cyprinus carpio*, гибрид кои и золотой рыбки, а также толстолобик и белый амур

не восприимчивы к CyHV2 [44, 81, 90]. Возраст рыб был до 1 года, масса 5-15 грамм. Вспышки болезни имели место весной при температуре воды 15-20⁰С у рыб всех возрастов. Механизм передачи вируса может быть вертикальный и горизонтальный [69]. Смертность достигала 100 % [44, 78, 79]. При внутрибрюшной инъекции в дозе 10⁵ ТЦД₅₀ кумулятивная гибель достигала 100% в течение 13 дней [117]. При температуре более 25⁰С болезнь затухала, при этом выжившие рыбы становились носителями и являлись источником болезни для незаражённых рыб [114, 117]. Вирус выделяли в клеточных линиях FHM, EPC и KF при температуре 20⁰С [110]. Выделить вирус, даже в чувствительных клеточных линиях, трудно [30, 78, 117]. Для выделения вируса и решения прикладных задач может использоваться клеточная линия золотых рыбок [90, 131].

Поражённые рыбы были истощёнными, апатичными, отказывались от корма, держались на дне, учащённо дышали [44, 78, 110, 117]. У части рыб наблюдались побелевшие плавники, кровоизлияния в области основания плавников [99, 191], гиперемия брюшка [136], изменение пигментации тела [99], пучеглазие и водянка [109, 116]. В жабрах некротические бледные пятна с избытком слизи [69, 78], очаги кровоизлияния [51, 69, 99, 134], гиперплазия и слияние жаберных лепестков [30, 110]. Наиболее сильные поражения наблюдали в почках и селезёнке [54, 116, 117, 132]. Почки набухшие, увеличенные, бледные [44, 82, 110]. В кроветворной ткани головной и туловищной почки наблюдался очаги некроза [51, 69, 78, 80, 99, 110] в клетках кариопикноз и кариорексис. В почечных канальцах и клубочках незначительные очаги некроза [117], дегенерация [44], дилатация капилляров клубочков [99]. Селезёнка увеличена с белыми узелками 1мм. Селезёночная пульпа с обширным некрозом [69]. Некротические поражения иногда сопровождаются геморрагиями. Печень бледная, но гепатоциты выглядят нормальными, иногда в синусоидах стаз крови [117]. У некоторых рыб поджелудочная железа воспалена [69] и отмечается некроз ацинарных клеток и островковой ткани [117]. Кишечник лишён пищи [110, 136], слизистая с очагами некроза, наблюдается воспалительная

инфильтрация лимфоцитами, нейтрофилами, макрофагами, плазматическими клетками [69]. В плавательном пузыре отмечены геморрагии [78, 136]. В других органах (мускулатуре, сердце и головном мозге) патолого-гистологические изменения не обнаружены [117]. В некротичных клетках наблюдаются кариорексис, а также кариопикноз и гипертрофия ядра с маргинацией хроматина и включения в центре ядра [69, 78, 81, 99, 110, 136].

Для постановки диагноза часто применяется электронная микроскопия, при которой обнаруживаются нуклеокапсиды-115-117 нм и вирионы-170-220 нм., а также гистология [79]. Также разработан метод ПЦР [51,54] и более чувствительный и дешёвый метод – флуорисцентная *in situ* гибридизация (FISH) [99].

Герпесвирусная болезнь карпа кои, возбудитель – герпесвирус карпа кои. Впервые болезнь обнаружена в Великобритании в 1996 г., но возбудитель *surprinid* HV 3 выделен в Израиле после вспышки болезни в 1998 г. [28]. Случаи массовой гибели обыкновенных карпов и карпов кои регистрировались с 1997 г. в Северной Америке, Европе, Индонезии, Корее, Японии, Африке, Южной Америке, Австралии, Малайзии, Таиланде, Тайване [21, 22, 41, 47, 56, 62, 63, 70, 123, 135, 150, 195, 196, 211]. Восприимчивыми к CyHV 3 являются обыкновенный карп (*Cyprinus carpio*), сазан и карп кои [41, 186,194], Однако по данным Miwa S., et al, (2015) кои более чувствительны к данному вирусу. Болеют все возрастные группы, но мальки 2.5-6 гр. более восприимчивы [62, 63, 150]. Основным путём передачи вируса является вода [149]. Механическими переносчиками являются другие виды рыб и беспозвоночные [104, 149, 195]. Вирус выделен в клеточных линиях KF-1, ССВ, СФС [84, 105, 190]. ЦПЭ проявлялся через 5 суток при температуре 20⁰С образованием симпластов, вакуолизацией и образованием гигантских клеток [21, 105, 190]. Через 7-10 суток наблюдалось полное поражение монослоя [105]. Оптимальная температура для репродукции CyHV3 22-26⁰С [62]. Особенно остро болезнь протекает при температуре 17-26⁰С [146, 186, 194]. При более низких температурах воды болезнь протекает в хронической форме с низкой смертностью, при 13⁰С

клинические признаки отсутствуют, инфекция переходит в латентную форму, а при повышении температуры до 23⁰С происходит обострение болезни и гибель рыб [105]. Инкубационный период составляет 7-21 день в зависимости от температуры [190]. При этом заболеваемость достигает 100%, смертность 90-100%, [84, 146, 186, 190].

У инфицированных рыб отмечены отказ от корма, апатия, за которой может следовать гиперактивность, нарушение координации движения ориентация головой вверх, энтофтальм или экзофтальм [63, 84, 105, 153, 210], плавание на мелководье [62].

Воротами инфекции считают кожу, в которой развиваются основные симптомы болезни [35, 45, 98, 153, 154]. При этом отмечают: депигментированные пятна на [105], у отдельных рыб повышенная [194] или пониженная секреция слизи [46, 105, 191], некроз и слущивание эпидермиса, покраснение и геморрагии в основании плавников [21, 190, 196]. Полагают, что вследствие поражения кожи возникает осмотический шок, являющийся главной причиной гибели рыб [153]. Позже вирус обнаруживается в жабрах и через несколько дней во внутренних органах [153]. В результате поражения кожи рыбы более восприимчивы к вторичным инфекциям и инвазиям. Происходит это в результате уменьшения экспрессии мРНК генов, кодирующих несколько важных компонентов слизистого барьера, в частности муцина 5В, бета дефенсина 1и 2 и плотных соединений белка клаудина 23 и 30 [46].

В жабрах отмечают гипертрофия, гиперплазия, слияние жаберных пластинок и очаговый некроз. Селезёнка увеличена. В паренхиме отмечают некроз отдельных клеток или очаговый некроз. Почки увеличены, в паренхиме воспалительная инфильтрация, застойная гиперемия, дистрофия эпителия канальцев во многих нефронах, очаги некроза. Некротические изменения обнаружены также в поджелудочной железе и в паренхиме печени. Некротические поражения в собственной пластинке кишечника [21, 47, 190, 199].

Внутриядерные включения обнаружены в нейронах головного мозга, который рассматривается как место локализации вируса при латентной форме

инфекции, также как при герпесвирусных инфекциях у других животных и человека [106, 153]. При этом патизменения в мозге, как правило, не выявляются [153], но ряд авторов отмечают отёк [47] и менингит [84]. Предполагают, что вирус проникает в ЦНС рыб через систему обоняния, так как вирус он первоначально обнаруживается в обонятельных луковицах [153] При латентной инфекции вирус может находиться в лейкоцитах [21, 105, 107, 145, 150, 165]. Нуклеокапсиды обнаруживаются в ядре, зрелые вирионы в цитоплазме. Размер нуклеокапсида от 100 до 110 нм, зрелого вириона 170-230 нм. В заражённых клетках часто наблюдают маргинацию хроматина и вирусные капсиды при электронной микроскопии. Геном Cyprinid HV 3 самых крупный в семействе Alloherpesviridae [75, 124, 145, 192].

Диагностика болезни проводится на основании гистологических данных, электронно-микроскопических исследований, ПЦР [164], ИФА [84]. Для профилактики используется вакцина KoVax [61].

2.3.5 Распространение, течение и патоморфологические изменения при герпесвирусной болезнях осетровых рыб

Среди осетровых в настоящее время официально установлены два типа герпесвирусных инфекций: на Американском континенте и одна герпесвирусная инфекция в РФ у сибирского осетра.

Герпесвирусная болезнь белого осетра, возбудитель – герпесвирус осетровых 1 типа. Вирус герпеса был выделен от молоди белого осетра, *Acipenser transmontanus* в период большой смертности на рыбноводной ферме в Калифорнии в США в конце 80-х [88]. Позже от того же вида осетровых, в первый и единственный раз АсіНV1 выделили в Европе, в Италии [74, 166]. Для изоляции вируса использовалась клеточная культура WSSK-1, полученная из клеток кожи белого осетра. ЦПЭ выражался в образовании через 3 дня синцития, через 5 дней поражался весь клеточный монослой, через 7 дней погибшие клетки отделялись от поверхности. Репликация вируса происходит при температуре 10-20⁰С, при этом оптимальная температура для инкубации– 15⁰С [88].

Кумулятивная гибель молоди (1-3 г) больных осетров составила 35%, при этом явных симптомов отмечено не было. При вскрытии видимых патологических изменений внутренних органов не выявлено, только в кишечнике наблюдалось повышенное скопление слизистой жидкости [88]. При патолого-гистологических исследованиях выявляли очаговый дерматит, сопровождавшийся акантозом и межклеточным отёком, гипертрофией мальпигиевых клеток и разрушением межклеточных контактов. В поражённых клетках ядра незначительно увеличены, отмечена маргинация хроматина, которая иногда сочетается с неявно выраженными, несвязанными с ядерной мембраной включениями. При электронной микроскопии инфицированных тканей выявлялись нуклеокапсиды 110 нм и вирионы 230 нм в диаметре. Диагноз на АсіHVD1 ставится на основании ЦПЭ в культуре клеток WSSK-1 и ПЦР [74, 88, 166].

Герпесвирусная болезнь белого осетра, возбудитель герпесвирус осетровых 2 типа. Впервые *Acipenserid herpesvirus 2* был выявлен у взрослых белых осетров *Acipenser transmontanus*, в США. Вирус был изолирован в культуре клеток селезёнки белого осетра WSS-2 из овариальной жидкости взрослых осетров [197]. Вскоре после этого АсіHV2 был повторно выделен из кожи с язвенными поражениями, полувзрослых белых осетров, выращенных в осетровом хозяйстве, в котором отмечалась высокая заболеваемость и смертность [82, 198]. Позже АсіHV2 был обнаружен у тупорылого осетра, *Acipenser brevirostrum* на Северо-востоке Канады [40, 74, 166].

При экспериментальном заражении молоди белого осетра методом ванн кумулятивная смертность составила 80% в течение 6 недель [198]. У больных рыб наблюдалось нарушение координации движения, апатия, слизистые, сферические бляшки на поверхности тела, гиперемия жучек, покраснения в области рта и ануса [197]. При патолого-гистологических исследованиях выявляли гиперплазию эпидермиса, изъязвления кожи в области головы [198].

Впервые герпесвирус в Европе выделен в Европейской части России от сеголетков сибирского осетра, *Acipenser baeri* в период максимального подъема

эпизоотии в одном из осетровых хозяйств [68]. В начале для изоляции возбудителя использовали культуры клеток осетровых рыб SSO-1, SSO-2, SSO-3, SSF-1, SSF-1, SSF-2, SSF-3 и WSSK-1, но в дальнейшем применялись наиболее чувствительные к вирусу герпеса SSO-2, SSF-2, WSSK-1 а также WSS-2, предоставленную профессором Рональдом Хедриком из Калифорнийского университета. Наилучшая репликация вируса наблюдалась при температуре 15⁰С. ЦПД на третьи сутки выражался в округлении клеток, на 2-9 монослой полностью разрушался [84].

Герпесвирусная болезнь сибирского осетра, возбудитель - герпесвирус сибирского осетра (SbSHV) преимущественно поражает сибирского осетра, но вирус также выделен у гибрида белуги и стерляди – (бестера), гибрида русского и сибирского осетров и стерляди [18]. Вирус герпеса выделенный в России получил название *Siberian sturgeon herpesvirus*, (SbSHV). Исследования его генома, молекулярных и биологических свойств показали, что данный тип вируса близок канадскому типу *AsiHV-2*, [57]. При этом по данным литературы существует большая разница в патолого-анатомических изменениях внутренних органов при *AsiHVD-2* канадского типа и *SbSHVD*. Если у *SbSHV*-инфицированных сибирских осетров наблюдаются значительные патологические изменения внутренних органов, то у белых и тупорылых осетров больных *AsiHVD-2* заметных патологий внутренних органов не выявлено [40, 68, 198].

В экспериментальных условиях при заражении сеголеток сибирского осетра методом ванн при температуре 14- 16⁰С первые симптомы отмечали через 6 дней, на 9 день появлялись первые погибшие рыбы. Больные рыбы малоподвижны чаще лежат на дне аквариума, у них наблюдается учащённое дыхание. Периодически рыба двигается хаотично и беспокойно. Некоторые особи плавают у поверхности воды, перевернувшись вверх брюшком, или принимают вертикальное положение. На 10-11 день после заражения на коже обнаруживались полупрозрачные бляшки от 1 до 4 мм. Отмечали некроз плавников. В местах образования бляшек развивалась сапролегния и миксобактерии. За 1-2 дня до гибели рыб на коже, особенно на каудальной стороне наблюдали множественные петехии. При

вскрытии в брюшной полости обнаруживалась асцитная жидкость соломенно-жёлтого, а у некоторых больных рыб кровавого красного цвета. Печень бледная, почти белая, желчный пузырь увеличен, переполнен желчью. Кишечник часто без пищевых масс, а его задний отдел с признаками геморрагического воспаления с полупрозрачным слизеподобным содержимым желтоватого или кровавистого цвета [18, 68,84].

В экспериментах длительностью 20 дней наступала 100% гибель подопытных рыб. Клинические признаки и патолого-анатомические изменения у экспериментально заражённых и естественно больных осетров были сходны [67].

К настоящему времени определено 2 типа SbSHV [71, 112], различающимися по ЦПЭ в культуре клеток WSS-2 и по продолжительности инкубационного периода. Герпесвирус первого типа (9 изолятов) вызывает в культуре клеток образование больших многоядерных синцитий, инкубационный период составляет 10-14 дней. ЦПЭ в культуре клеток, заражённой герпесвирусом SbSHV второго типа (2 изолята) выражается в округлении клеток во всём монослое, инкубационный период инфекции достигает 1 месяца. По данным литературы при экспериментальном воспроизведении болезни с применением 1 и 2 типов SbSHV заболеваемость и смертность у подопытных рыб, а также клинические признаки, патолого-анатомические изменения, наблюдались сходные [72].

С помощью электронной микроскопии в ядрах заражённых клеток обнаруживают капсиды экосаэдрической формы 100-110 нм. и вирионы в цитоплазме 200-250 нм в диаметре [68].

2.4 Заключение по обзору литературы

Данные литературы свидетельствует о широком распространении герпесвирусных инфекций рыб в условиях аквакультуры и частично в диких популяциях. Некоторые болезни, вызываемые этими вирусами широко распространены в мире (CyHV1, CyHV2, CyHV3), другие (IcHV1, IcHV2, SalmHV2) – носят локальный характер.

Тяжесть течения герпесвирусных болезней зависит от вида вируса, возраста, физиологического состояния и вида восприимчивых рыб, температуры воды. Нередко остро протекающие болезни вызывают большую смертность у молоди рыб, которая часто достигает 100%.

Как правило, наиболее выраженными, являются патологические изменения кожи, которые выражаются в гиперплазии эпидермиса, геморрагиях и в некоторых случаях образовании язв. По заключению многих авторов подобное проявление свидетельствует о тропности данных герпесвирусов рыб к эпидермальным клеткам кожного покрова. Некоторые герпесвирусы рыб вызывают папилломы (Salm 2, Salm 4, CyHV1, SbSHV) но при герпесвирусной болезни Американской корюшки отмечено образование карциномы. При остром течении некоторых болезней наблюдаются генерализованные формы инфекции, выражающиеся дистрофическими и некротическими изменениями в других жизненно важных органах: печени, почках, кишечнике, жабрах.

В настоящее время в мире активно проводятся исследования по разработке чувствительных методов молекулярной диагностики данных болезней, многие герпесвирусы выявляются пока только с помощью гистологических и электронно-микроскопических исследований.

Особенно слабо изучены патоморфологические изменения герпесвирусной инфекции осетровых рыб, хотя они приобретают особую актуальность в настоящее время в связи с интенсивным развитием аквакультуры осетровых рыб в нашей стране.

В связи с этим перед нами поставлена цель – изучить патоморфологические изменения и основные стороны патогенеза герпесвирусной инфекции сибирского осетра, на основе чего усовершенствовать диагностику данной болезни.

3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Материалы и методы

Работа выполнена в 2011 – 2016 гг. на кафедре мелкого животноводства МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина и частично на базе лаборатории здоровья гидробионтов ГНУ ВНИИВВиМ РАСХН и ФГБУН ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН в порядке творческого сотрудничества.

Материал для патолого-морфологических исследований был собран от экспериментально заражённых и естественно больных герпесвирусной инфекцией сеголеток сибирского осетра и его гибрида с русским осетром. Для экспериментального воспроизведения герпесвирусной болезни поставлено 3 варианта опытов. Эксперименты проводили в аквариальной ГНУ ВНИИВВиМ по единой схеме (рис.2). Опыт №1 поставлен нами самостоятельно с проведением всего комплекса исследований: экспериментальных, вирусологических, патоморфологических, бактериологических, электронно – микроскопических, гидрохимических. В опытах № 2 и 3, поставленных совместно с сотрудниками лаборатории здоровья гидробионтов, нами отобран патматериал для патоморфологических исследований.

3.1.1 Схема постановки опытов

Опыт 1

В опыте №1 использованы сеголетки гибрида русского и сибирского осетров (*Acipenser gueldenstaedti x Acipenser baeri*) возрастом 6 мес. Подопытных рыб в возрасте малька доставляли из благополучного по инфекционным болезням хозяйства - НПЦ «Биос» Астраханской области, после транспортировки доращивали в аквариальной ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Подращенных сеголетов в возрасте 3 месяцев и средней массой 50 г. доставляли в аквариальную лабораторию здоровья гидробионтов ГНУ ВНИИВВиМ для проведения опыта и адаптировали в течение 1 месяца в аквариуме ёмкостью 100л. Далее формировали контрольную (6 экз.) и опытную(20 экз.) группы рыб, помещали их в отдельные аквариумы объёмом 100 литров с проточной (со

скоростью 100л/ч) отстоянной артезианской водой. Рыб заражали штаммом SK1/0406 методом ванн [11] в течение 1 часа. Для этого в отдельный аквариум помещали подопытных рыб в соотношении общей ихтиомассы к массе воды 1:10, добавляли культуральную вирусосодержащую жидкость из расчёта создания разведения 1/100 к объёму воды в аквариуме, что обеспечивало конечную концентрацию вируса 10^4 ТЦД₅₀/мл. После заражения рыб пересаживали в те же проточные аквариумы с артезианской водой. Опыт проводили при температуре 14-16 °С, с содержанием кислорода 7-9 мг/л.

Рыб кормили форелевым комбикормом 2 раза в день. Количество корма рассчитывали по поедаемости в течение 5 минут. Ежедневно в журнале регистрировали отклонения в поведении рыб, описывали симптомы, патологоанатомические изменения кожи, жабр и плавников, учитывали погибших рыб. Для более детальной оценки поражений кожи, жабр и плавников использовался ручной микроскоп МС – 40. Сеголетков с выраженными клиническими признаками болезни отсаживали для патологоанатомического вскрытия, отбора проб патологического материала для гистологических, вирусологических и электронно-микроскопических исследований. Продолжительность эксперимента составила 50 суток.

Качество воды определяли один раз в неделю по гидрохимическим показателям: общей жёсткости, содержанию растворенного кислорода, аммоний-иона, нитрит-иона, железо-иона, с помощью гидрохимических тестов компании Sera.

Опыт 2

Опыт поставлен, по той же методике, что и опыт №1. Бактериологические, гидрохимические, клинические и патоморфологические исследования выполнены нами самостоятельно. Вирусологические исследования выполнены сотрудниками лаборатории. В опыте использованы подрощенные в условиях аквариальной сеголетки сибирского осетра, *Acipenser baeri* возрастом 2 мес., полученные из благополучного по инфекционным заболеваниям ООО «Рыботоварная фирма «Диана». Рыб заражали изолятом SIz6/0311. Количество рыб в опытной группе

было 40 экз., контрольной – 10 экз. Рыб опытной группы размещали в 2 аквариума по 20 экз.

Опыт 3

Опыт поставлен по той же методике, что и опыт №1, 2. Клинические, патоморфологические, бактериологические, гидрохимические исследования выполнены нами самостоятельно. Вирусологические исследования выполнены сотрудниками лаборатории. В опыте использованы сеголетки сибирского осетра, *Acipenser baeri* возрастом 2 мес. из благополучного по инфекционным заболеваниям осетрового рыбоводного хозяйства Электрогорской ГРЭС. В опытной группе использовали 40, контрольной – 10 рыб. Подопытных рыб разместили в два аквариума емкостью 100 л по 20 экз., а контрольных - в один аквариум емкостью 100 л. Для заражения использовали штамм SK1/0406.

Материалы для исследований при спонтанной герпесвирусной болезни в рыбоводном хозяйстве

В рыбоводном хозяйстве, в котором была выявлена герпесвирусная инфекция осетровых, нами было проведено клиническое обследование и патологоанатомическое исследование больных сеголеток сибирского осетра возрастом 50 – 70 суток. Обследованию подвергнуты предварительно отсаженные в лотки 100 рыб с явными клиническими признаками герпесвирусной болезни. При этом от 10 рыб собран патматериал для вирусологических и патолого-гистологических исследований.



Рис. 2 - Схема проведения исследований

3.1.2 Клинические наблюдения

Клиническому осмотру ежедневно подвергали всех подопытных рыб. При этом оценивали поведение рыб, сохранение или потерю рефлексов, угнетение и возбудимость, нарушение равновесия и координации движения, по движению жаберных крышек определяли частоту дыхательных движений, обращали внимание на реакцию на свет и звук. При осмотре рыб отмечали прижизненные изменения в кожном покрове, плавниках, количество слизи, пигментацию, наличие папиллом и некротических участков, язв, состояние жучек. Приподнимая жаберные крышки, осматривали жабры. Обращали внимание на их окраску, на возможное наличие геморрагий и очагов некроза. При осмотре области рта оценивали состояние кожного покрова. Рыб с явными клиническими признаками отсаживали для проведения патолого-морфологических исследований.

3.1.3 Патоморфологические исследования

Патологоанатомическое вскрытие погибших и вынужденно убитых сеголетков осуществляли в лаборатории. Живых рыб, предварительно обездвигивали путём разрушения спинного мозга разрезом позвоночника ножницами. При осмотре органов брюшной полости, обращали внимание на наличие и количество асцитной жидкости, её цвет, консистенцию. Далее оценивали состояние внутренних органов; форму, размер, цвет, консистенцию, наличие в них кровоизлияний, отёка. Затем внутренние органы извлекали и осторожно отделяли друг от друга. Исследовали: печень, почки, кишечник, сердце, селезёнку. Кишечник расправляли и делали продольный разрез, обращали внимание на наличие пищи, цвет, состояние слизистой, наличие кровоизлияний, истончений, отёчности. При осмотре сердца обращали внимание на состояние лимфоидной железы [5]. Перед вскрытием черепной коробки предварительно удаляли пластинчатые кости костного черепа (dermoscranium): парные лобные, медиальные, теменные и чешуйчатые. После этого вскрывали мозговую часть хрящевого черепа (chondrocranium). Головной мозг сначала осматривали, затем извлекали из черепа, подрезая ножницами вентральные нервы.

Для *патолого-гистологических* исследований отбирали кусочки печени, почек, селезёнки, средней кишки, сердца, мозга, жабр, кожи, плавников размером 0,5x 1,0 см., фиксировали в 10% забуференном растворе формалина. Для гистологических исследований готовили парафиновые, целлоидиновые и замороженные срезы. Гистологическую обработку материала проводили общепринятыми методами с применением некоторых модификаций с учётом особенностей тканей рыб. Для обезвоживания материала использовали изопропиловый или этиловый спирт возрастающей крепости по следующей схеме:

60⁰ спирт, экспозиция 40 мин

70⁰ спирт, экспозиция 40 мин

80⁰ спирт, экспозиция 40 мин

90⁰ спирт, экспозиция 40 мин

100⁰ - I спирт, экспозиция 30 мин

100⁰ - II спирт, экспозиция 30 мин

Для приготовления замороженных срезов материал заливали в желатину общепринятыми методами [10]. Декальцинацию чешуек, жаберных дуг проводили с применением 10% раствора трихлоруксусной кислоты в течение 3 часов, с последующей отмывкой в 96⁰ спирте в течение 1 суток при смене спирта через каждые 8 часов.

Как промежуточная среда при заливке в парафин применялся хлороформ. Пропитывались объекты гомогенизированным парафином-парапластом. Заливку в парафин и изготовление парафиновых блоков осуществляли в станциях заливки Microm EC 350. Заливку в целлоидин проводили общепринятым методом [10]. Для приготовления гистологических срезов использовали: ротационный микротом МПС – 2; санный микротом МС – 2, ротационный микротом НМ – 440; микротом – криостат МК – 25.

Для окрашивания гистосрезов применяли гематоксилин и эозин по общепринятой методике [4,10] с использованием гематоксилина Майера, Эрлиха

и водного – спиртового раствора эозина, липиды выявляли суданом – III, суданом чёрным.

В связи с недостатком научных данных по гистологическому строению ряда органов осетровых оценку патоморфологических изменений при герпесвирусной инфекции проводили путем сравнения их с состоянием органов контрольных (здоровых) рыб.

3.1.4 Вирусологические и бактериологические методы исследований

Для постановки экспериментов использовали герпесвирус сибирского осетра (SbSHV), штамм SK1/0406, выделенный от осетров в одном из хозяйств Европейской части РФ и изолят SIz6/0311, полученный от сеголеток в осетровом хозяйстве Удмуртии, с конечной концентрацией вируса 10^4 ТЦД₅₀/мл. В работе использованы перевиваемые клеточные линии пула печени и селезёнки сибирского осетра *Acipenser baeri* (SSO-2), селезёнки белого осетра (WSS-2) сыворотка плода коровы (СПК, gibco invitrogen), питательная среда 199, Диспептизирующий раствор: раствор трипсина (0,25%) (ПИПВЭ РАН), раствор версена (0,02%), антибиотики: бензпенициллина натриевая соль, стрептомицина сульфат, гентамицин, нистатин.

Для вирусологических исследований отбирали кусочки паренхиматозных органов: печени, почек, селезёнки, а также кожу, плавники, жабры и слизь. Слизь отбирали на 20 сутки после заражения от всех рыб. Выделение вируса проводили согласно методическим рекомендациям [11, 12]. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [3].

В работе использовали следующее оборудование и принадлежности: Настольный бокс с вертикальным (Belko Glass, Inc) и горизонтальным (АНС-4А1, ESCO) ламинарным потоком воздуха; инвертивный микроскоп Nikon Eclipse TS 100, термостат ТС 1; хладотермостат ХТЗ/40-2 (+15⁰, +19⁰С); бытовой холодильник (+4⁰С); термостаты ТС-80; низкотемпературный холодильник (-70); весы электронные аналитические (Ohaus); низкоскоростная рефрижераторная центрифуга К – 70D; дозаторы с переменным объемом; 96-луночные пластиковые планшеты; стеклянная лабораторная посуда общего назначения.

Для микроскопического выявления бактерий рода *Flexibakter* и грибов рода *Saprolegnia* готовили нативные мазки из соскоба кожи с последующей из окраской синькой Лефлера в разведении 1:10.

3.1.5 Электронно-микроскопические исследования

Электронно-микроскопические исследования проводились совместно с сотрудниками Центра коллективного использования электронной микроскопии ФГНУ Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН по общепринятым методикам [14]. Для выявления вирусных частиц и изучения их морфологии применяли электронный микроскоп Jem 100С.

3.1.6 Общее количество рыб, подвергнутых исследованиям

Количество рыб подвергнутых клиническим, патолого-морфологическим, вирусологическим, бактериологическим и электронно-микроскопическим исследованиям представлено в таблице 3.

Таблица 3. Количество рыб, подвергнутых исследованиям

Виды исследований	Количество рыб (экз.)
Общее количество рыб	200
Клинические	200
Патолого-анатомические	127
Гистологические	63
Электронно-микроскопические	8
Вирусологические	67
Бактериологические	24

3.1.7 Статистические методы

Статистическую обработку данных проводили согласно общепринятым методам [9].

3.2 Результаты собственных исследований

Заболевание воспроизведено во всех опытах, но тяжесть течения, динамика развития болезни и клинического проявления инфекции в разных экспериментах отличались. Герпесвирус реизолировали из всех органов рыб, взятых для исследований. При этом содержание вируса в органах во всех трёх биопробах было примерно в одинаковых пределах: в пробах кожи и плавников – 6 – 8 lg ТЦД₅₀/мг ткани; в печени, почках, кишечнике и сердце – 6 – 7 lg ТЦД₅₀/мг ткани; жабрах – 5 – 6 lg ТЦД₅₀/мг ткани; в мозге и селезёнке – 3 – 5 lg ТЦД₅₀/мг ткани.

3.2.1 Опыт 1. Результаты исследований при заражении сеголетков гибрида русского и сибирского осетров штаммом SK1/0406

Клиническое течение инфекции. Длительность опыта составляла 50 суток. Первые клинические признаки заболевания отмечены у 1 рыбы на 21 сутки после заражения. Затем тяжесть болезни нарастала. На 23 сутки появились клинические признаки у 2 экземпляров, на 27 - симптомы отмечены ещё у 1 рыбы и одна рыба погибла. На 32 сутки явные клинические признаки наблюдались ещё у 3 рыб, две из которых погибли. К 38 суткам явные симптомы болезни, а также осложнение болезни сапролегниозом наблюдались у 2 рыб, одна из них погибла. На 40 сутки у двух рыб были обнаружены покраснения в области жучек, анального и брюшных плавников, которые через два дня исчезли. На 42 сутки погибла ещё одна рыба с выраженными клиническими признаками. Эксперимент был завершён в связи с отсутствием симптомов заболевания у оставшихся рыб.

Обобщённые данные по развитию болезни представлены в таблицах 4,5.

Таблица 4 – Развитие клинических признаков сеголетков гибрида русского и сибирского осетров, заражённых штаммом SK1/0406.

Количество дней с момента заражения	Клинические признаки и внешние изменения
21	Вялость, апатия, отказ от корма, учащённое дыхание
22-27	Вертикальное положение, хаотичные движения, атрофия мышц, петехии, бляшки
25-32	Распад ткани кончиков плавников, геморрагии,
32-42	Выпадение прямой кишки, адинамия, вторичная инфекция(сапролегниоз)

Таблица 5 Кумулятивная гибель сеголетков гибрида русского и сибирского осетров, зараженных штаммом SK1/0406, (n=20)

Количество дней с момента заражения	21	27	32	38	42
Кумулятивная гибель, экз/%	0	1/5	3/15	4/20	5/25

Как видно из таблиц инкубационный период составил 21 день, заболеваемость – 35%, (7 рыб), смертность – 25% (5 рыб).

В процессе опыта от больных вынужденно убитых рыб были взяты пробы для вирусологических (5 экз.) гистологических (5 экз.) и электронно-микроскопических исследований (8экз.). Параллельно с этим такие же пробы взяты для вирусологических и гистологических исследований от рыб контрольной группы (6 рыб).

Результаты вирусологических исследований. Исходный вирус выделен в наиболее высоких титрах из проб кожи, слизи, печени, почек, спиральной кишки ($5.8-7,1 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$), и несколько ниже из жабр, селезёнки и сердца ($5.1-5.6 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$). У двух рыб вирус был выделен только из слизи. У рыб контрольной группы вирус не выделен.

Результаты расчёта титра вируса представлены в таблице 6

Таблица 6 – Содержание вируса в патматериале от больных рыб

№ РЫБЫ	Титр вируса lg ТЦД ₅₀ /см ³								
	Плавник	Кожа	Жабры	Печень	Селезёнка	Почка	Ср. кишка	Сердце	Слизь
1	6.35	4.85	-	6.1	5.85	6.1	5.35	6.1	5.35
2	5.85	7.1	6.1	6.35	-	6.1	5.85	3.85	6.35
3	5.1	5.1	6.1	6.1	6.35	5.85	6.35	5.2	6.35
4	6.35	6.1	4.35	5.35	5.35	5.1	5.35	5.1	4.35
5	5.35	6.1	6.1	6.1	5.1	6.1	6.35	5.35	6.85
6	-	-	-	-	-	-	-	-	4.35
7	-	-	-	-	-	-	-	-	4.1
$\bar{X} \pm s_x$	5.8 ± 0.57	5.85 ± 0.90	5.66 ± 0.88	6.00 ± 0.33	5.66 ± 0.84	5.85 ± 0.43	5.85 ± 0.5	5.10 ± 0.81	5.39 ± 1.3

Идентичность выделенного вируса подтверждена по ЦПД в культуре клеток и с помощью электронной микроскопии. При инокуляции патологическим материалом в клеточной линии SSO₂ первые признаки ЦПЭ появлялись через 5 дней. При этом наблюдалось округление клеток, и образование кластеров. Через 10 дней отмечалась полная деструкция мнوسлоя.

При электронно – микроскопических исследованиях в ядрах и в цитоплазме эпителиальных клеток кожи выявлены капсиды по размеру (диаметр около 100 нм.) и морфологии соответствующие герпесвирусу (рис. 3).

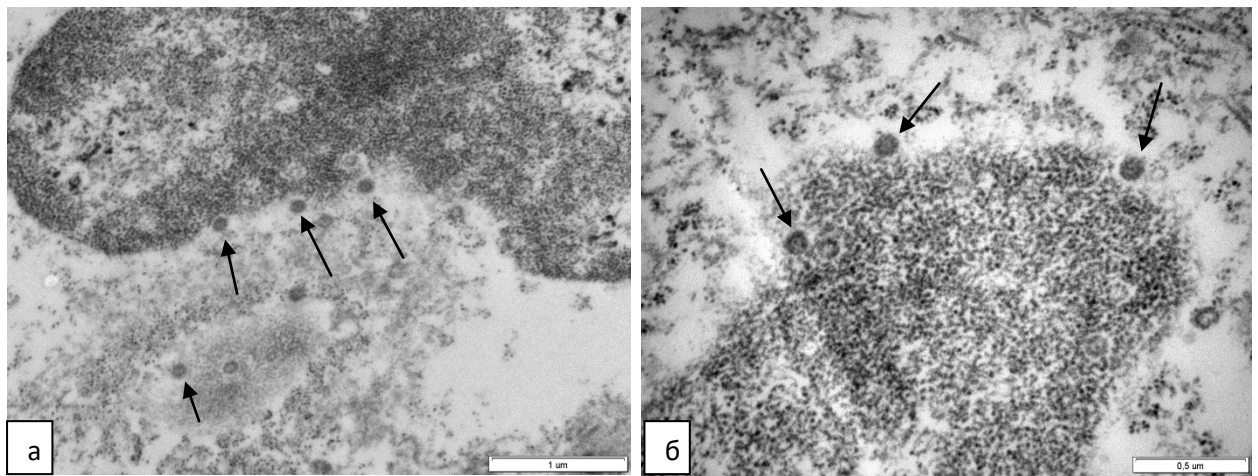


Рис.3 а,б – Эпителиальная клетка эпидермиса кожи, инфицированная SbSHV. Стрелками обозначены капсиды вируса.

Гидрохимические показатели качества воды на протяжении эксперимента находились в оптимальных пределах (табл. 7).

Таблица 7 – Гидрохимические показатели качества воды

Показатели	O ₂	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	pH	dh	Fe
Концентрация, мг/л	7-8	<0,3	<0,1	<0,5	7-8	6-7	<0,01

Клинические признаки и патологоанатомические изменения. После заражения сеголетков штаммом SK1/0406 первые признаки болезни появились на 21 сутки у одной рыбы. Они выражались замедлением движения, отказом от корма, истощением, атрофией мышц в области спины. Через два дня у этой рыбы на жучках хвостового стебля появились точечные кровоизлияния, а также бляшки на хвостовом плавнике (рис.4). На 26 сутки у неё были заметны признаки

некроза на дистальных концах хвостового, анального и брюшного плавников, а на 27 сутки наступило агональное состояние (адинамия, плавание на спине или боку, рис. 14). В этот период провели её убой, вскрытие и отбор кусочков органов для патогистологических исследований. При аутопсии у неё отмечали в брюшной полости незначительное скопление прозрачного экссудата, точечные кровоизлияния на брюшине, желчный пузырь переполнен желчью, селезёнка не увеличена светло – розового цвета. Печень и почки бледные, печень рыхлой консистенции (рис.13). Лимфоидная железа сердца увеличена, беловатого цвета. Желудок и двенадцатиперстная кишка без пищевых масс и видимых изменений, спиральный отдел средней кишки с признаками катарального воспаления, выразившегося покраснением слизистой оболочки и скоплением студенистого экссудата.

Ещё у 4 рыб на 25 сутки после заражения, наблюдали те же симптомы болезни: угнетение, отказ от корма, покраснение на брюшных, грудных и анальном плавниках. На 27 сутки ещё у 1 рыбы на концах хвостового плавника были видны полупрозрачные бляшки размером 1-3 мм, на других плавниках и частях тела подобных образований не выявлено. Одна рыба принимала положение вверх головой в виде «свечи» (рис.5), у всех заболевших особей обнаруживали геморрагии в области жучек (рис.6), изъязвления их вершин (рис.8), покраснения и точечные кровоизлияния на коже в вентральной части тела (рис.7). У двух рыб на спинках и боках под кожей выявлялись признаки застойной гиперемии, в виде повышенной инъекции сосудов (рис.9). У 3-х рыб, погибших на 28-32 сутки, наблюдали гиперемию слизистой, выпадение прямой кишки (проктит) (рис.10), точечные и пятнистые кровоизлияния в области брюшка, хвостового стебля, анального и брюшного плавников, изъязвление жучек. При вскрытии кишечник у них был свободен от пищевых масс, в спиральной кишке отмечено скопление слизеподобного содержимого с примесью крови. Печень бледная рыхлой консистенции, селезёнка с бледными пятнами (рис.11) В сердце увеличена лимфоидная железа (рис.12). Сходные клинические признаки и патологоанатомические изменения были у рыбы, погибшей через 42

суток после заражения. У двух рыб на 40 сутки появились покраснения в области жучек, которые через два дня исчезли. У 13 не заболевших рыб признаки болезни отсутствовали. Поскольку внешнее проявление болезни и гибель рыб прекратилась, на 50 сутки опыт был прекращён.

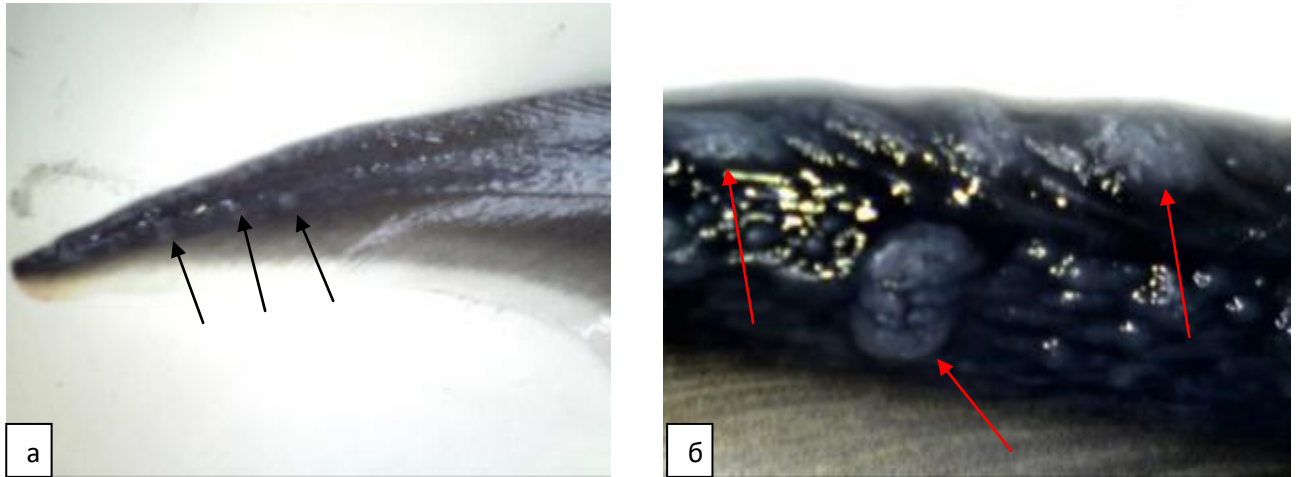


Рис. 4 - Бляшки на хвостовом плавнике, **а** – ув.х2, **б** –ув.х5.



Рис. 5 – Вертикальное положение рыбы в виде «свечи»



Рис. 6 - Точечные и пятнистые кровоизлияния кожи в области боковых жучек



Рис. 7 – Гиперемия и точечные кровоизлияния на коже в области хвостового стебля, брюшных и анального плавников

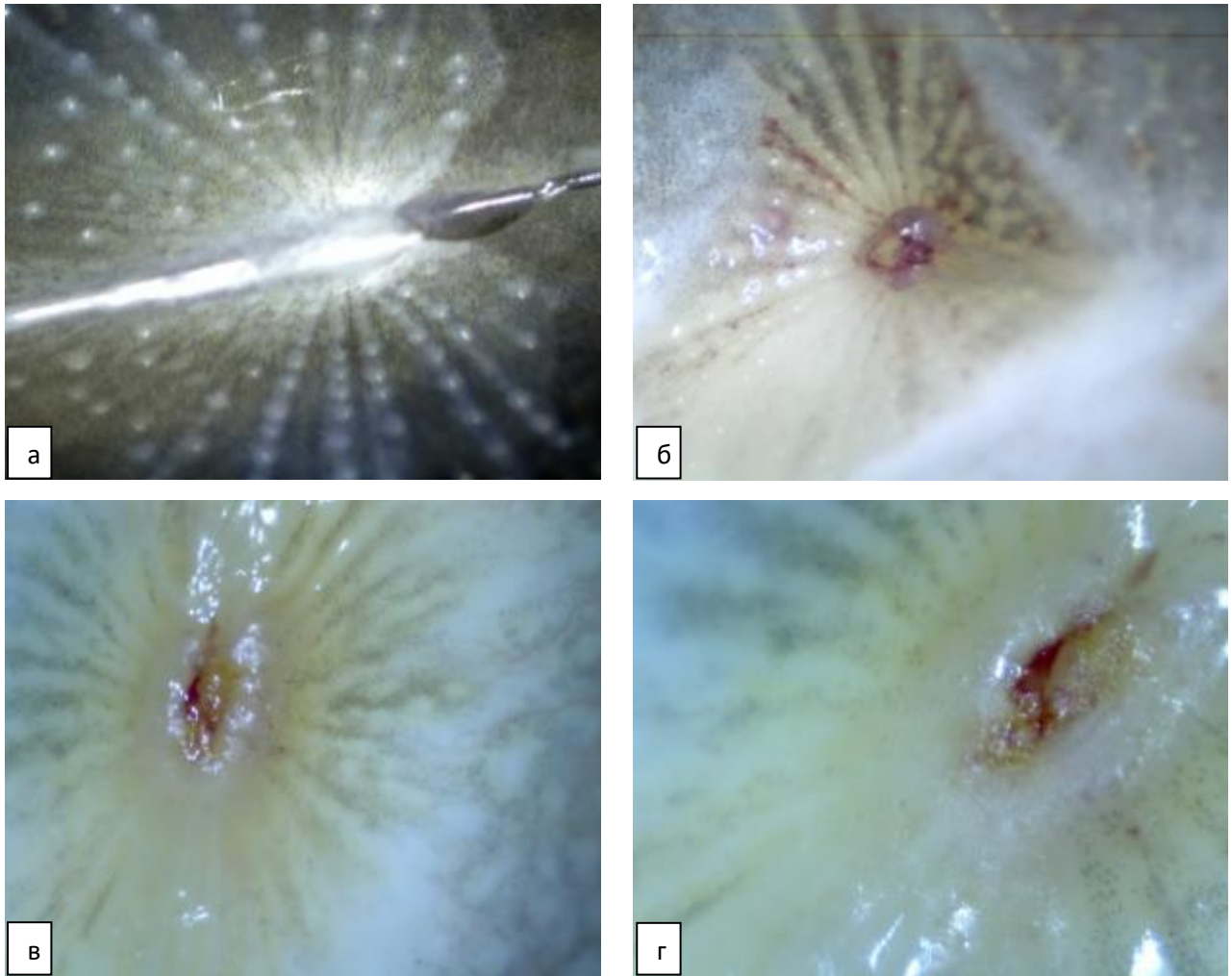


Рис. 8 - Жучки, **а** – здоровая жучка, ув.х7; **б** – жучка с точечными гемorragиями и изъязвлённой вершиной, ув.х7; **в,г** - жучки с изъязвлёнными вершинами, ув.х8

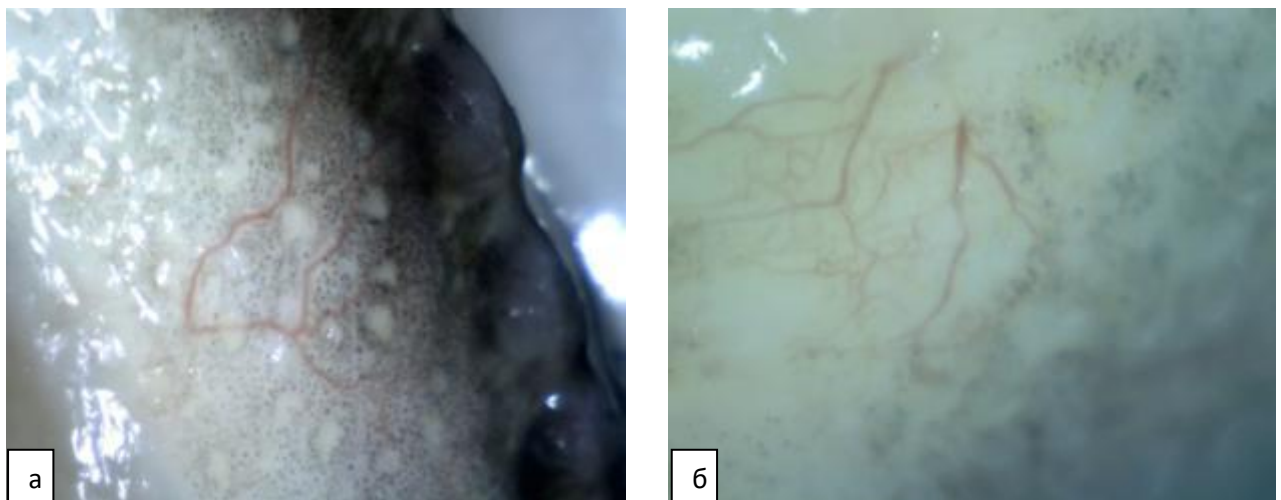


Рис. 9 - Инъекция сосудов кожи. **а** – на спинке, ув.х3; **б** – на боку, ув.х4



Рис. 10 – Точечные, пятнистые кровоизлияния, выпадение прямой кишки, проктит



Рис. 11 – Макрокартина селезёнки с бледными пятнам, ув.х4



Рис. 12 – Макрокартина увеличенной лимфоидной железы, ув. х3

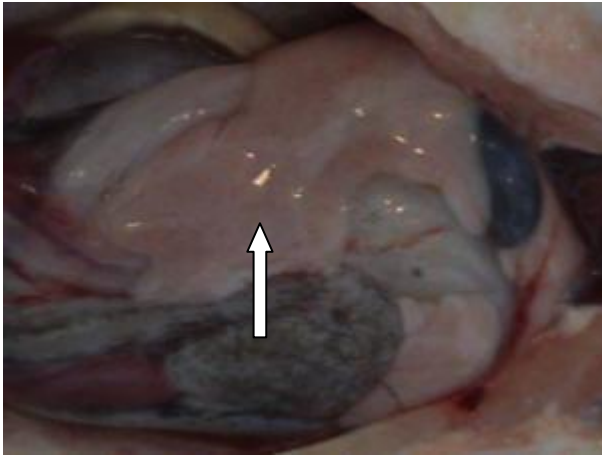


Рис. 13 – Макрокартина бледной печени



Рис. 14 – Выпадение прямой кишки, плавание на спине

Патогистологические изменения

Основные и наиболее тяжёлые микроструктурные изменения выявляли в общем (кожном) покрове разных участков тела и плавников, в печени, почках, спиральной кишке. В жабрах, селезёнке и сердце патогистологические изменения были менее выражены. При этом отмечали следующие изменения микроструктуры кожи: очаговое гиперпластическое разрастание эпидермиса с образованием узелков (бляшек) (рис.16, а), гипертрофию слизистых клеток и переполнение их слизью, разрывы клеточных оболочек вплоть до полного разрушения клеток (рис. 16, б, в), очаговую десквамацию и некроз эпидермиса, оголение и изъязвление жучек хвостового стебля (рис.16, г). При более легком течении инфекции преобладает гипертрофия и переполнение секретом слизистых клеток, разрыв их оболочек с выделением слизи во внешнюю среду, а также гиперплазия эпителия и образование на плавниках и хвостовом стебле эпителиальных бляшек, состоящих из малодифференцированных клеток. Узелки четко ограничены, в их центре содержится гомогенная масса, окружённая многослойным эпителием (рис. 16,а). Строение кожи хвостового плавника, хвостового стебля и туловищного отделов рыб контрольной группы показано на рисунке 15.

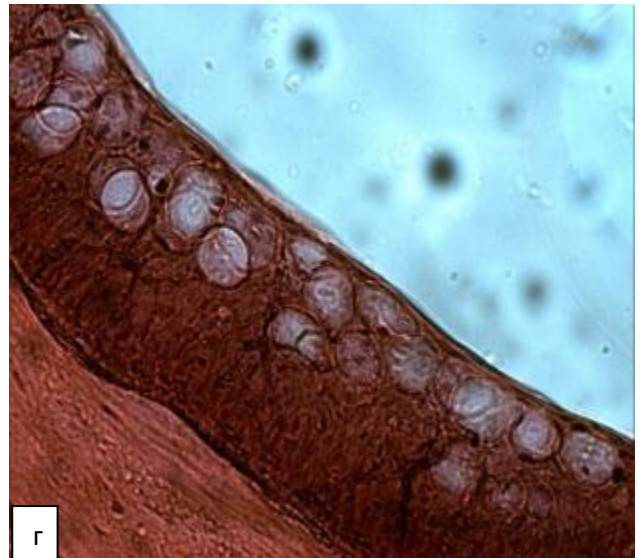
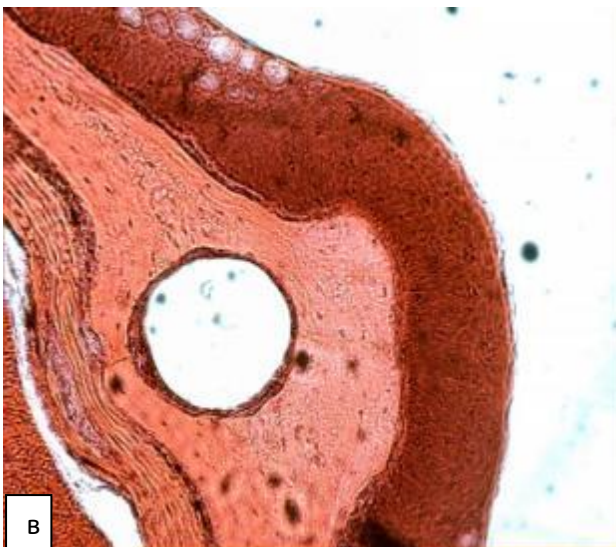


Рис.15 – Микроструктура кожи рыб контрольной группы. Гематоксилин и эозин; **а** – микроструктура хвостового плавника, Об.10, ок.10; **б** – микроструктура грудного плавника (дистальный конец). Об.10, ок.10; **в** – микроструктура кожи хвостового стебля с каналом боковой линии. Об.20, ок.10; **г** – микроструктура кожи в области хвостового стебля. Об. 40, ок.10

Количественное соотношение патогистологических изменений кожи у исследованных рыб опытной группы показано на рисунке 16.

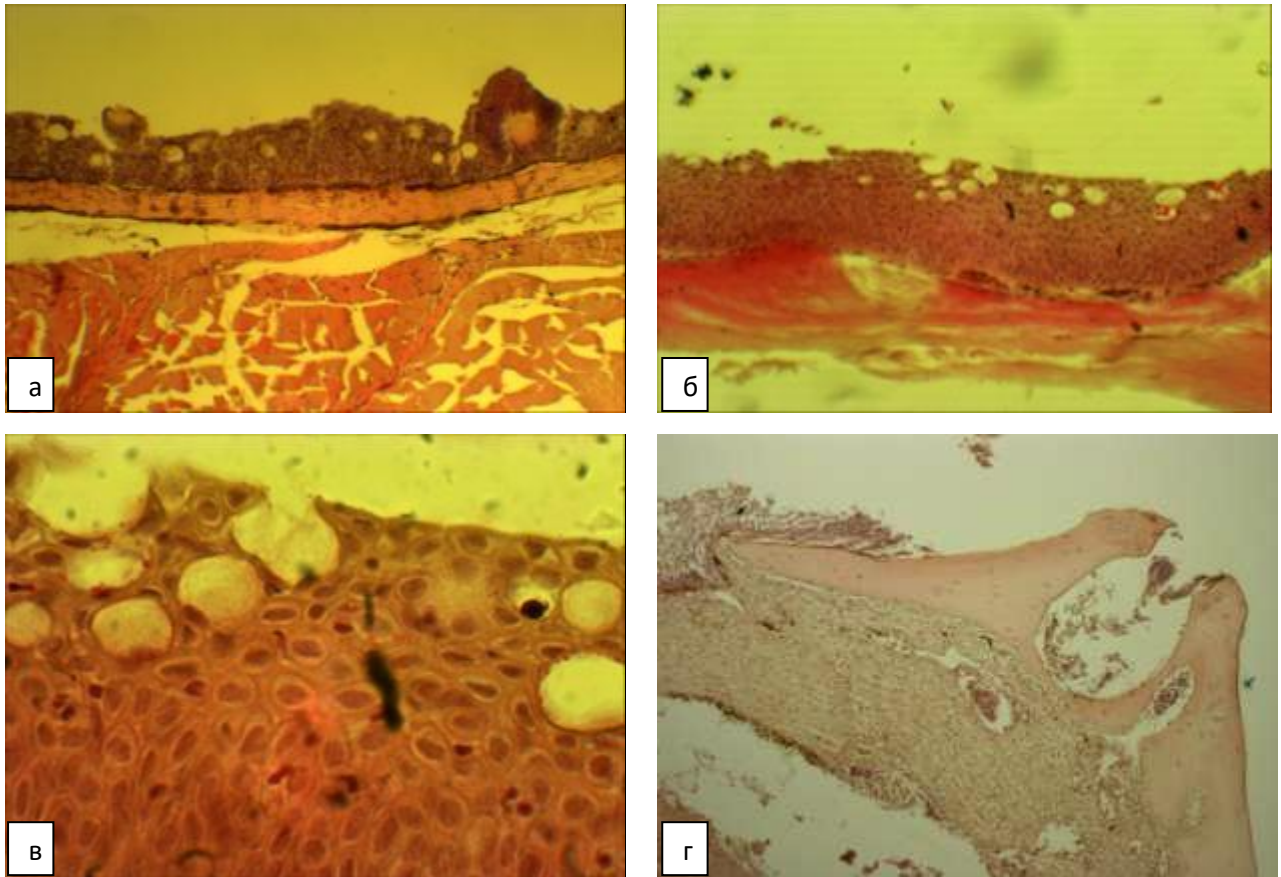


Рис. 16 – Микроструктура кожи рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин; **а** – гиперплазия эпидермиса. Об. 10, ок.10; **б** – гипертрофия и разрывы слизистых клеток, десквамация эпидермиса. Об. 10, ок.10; **в** – разрывы слизистых клеток. Об.40, ок.10; **г** – изъязвление жучки, некроз и слущивание эпидермиса и эпителия боковой линии. Об. 10, ок.10

Частота микроструктурных изменений кожи показана на рисунке 17.



Рис. 17 – Частота микроструктурных изменений кожи: 1 – гиперплазия эпидермальных клеток; 2 – гипертрофия и разрывы оболочек слизистых клеток эпидермиса; 3 – десквамация эпидермиса; 4 – язвы; 5 – бляшки (узелки) гиперплазированного эпидермиса; 6 – некроз эпидермиса

В печени преобладала деформация и дисконплексація гепатоцитов в ядрах отдельных клеток наблюдалась маргинация хроматина и кариопикноз (рис. 19, а, г). При тяжёлой форме течения болезни, с помощью окраски суданом III на липиды установлен процесс резорбции жира и развитие вакуольной дистрофии, выражавшийся наличием в срезе не окрашенных пустот (рис. 19, б). В терминальной стадии болезни наблюдали очаговый и диффузный некроз паренхимы, проявлявшихся диссоциацией, округлением и лизисом печёночных клеток, кариопикнозом, кариорексисом, плазмопикнозом (рис. 19, в).

На рисунке 18 представлена микроструктура печени рыб контрольной группы

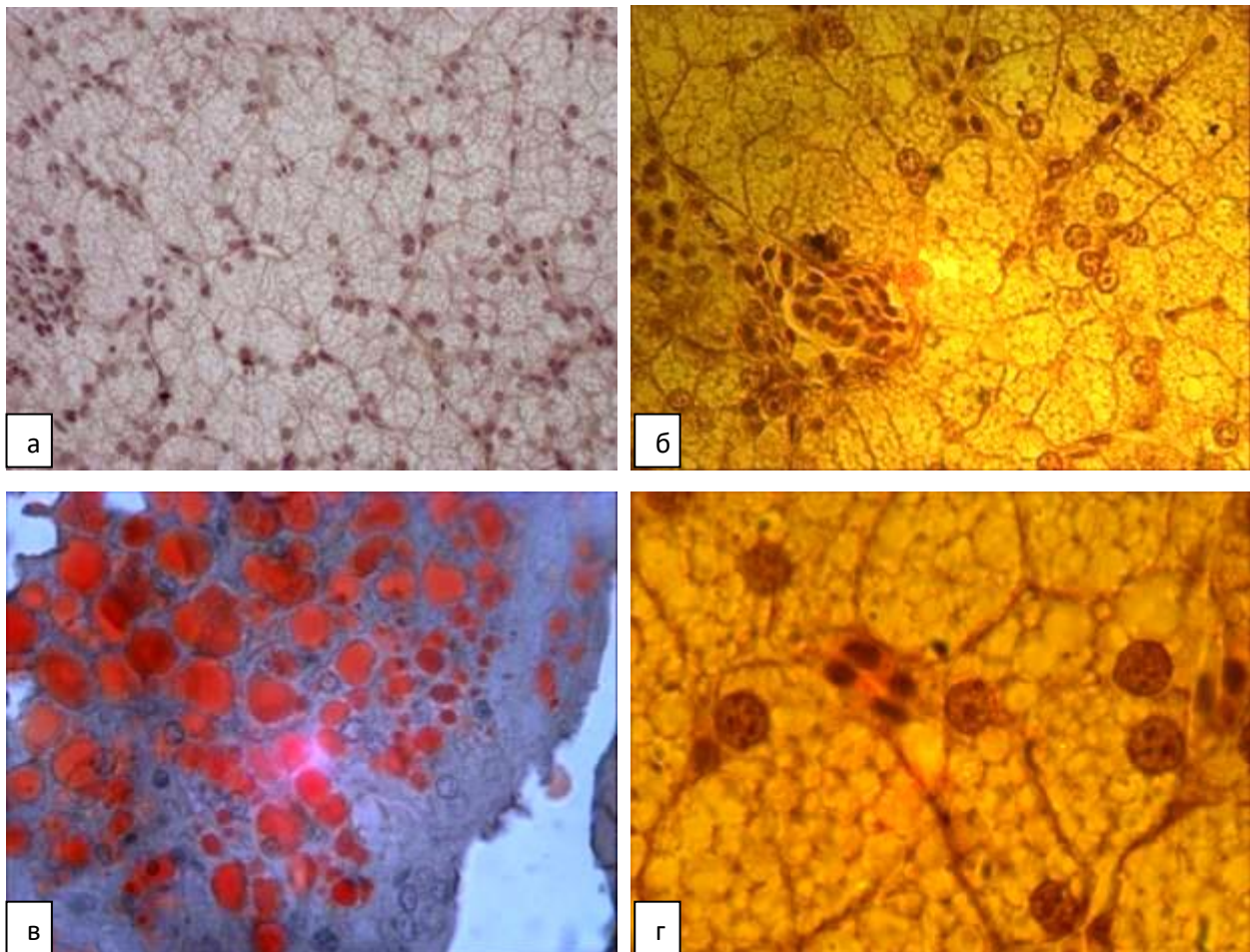


Рис.18 – Микроструктура печени рыб контрольной группы: **а** – гематоксилин и эозин. Об.20, ок.10; **б** – гематоксилин и эозин. Об.40, ок.10; **в** – судан III. Об.40, ок.10; **г** – гематоксилин и эозин. Об.90, ок.10

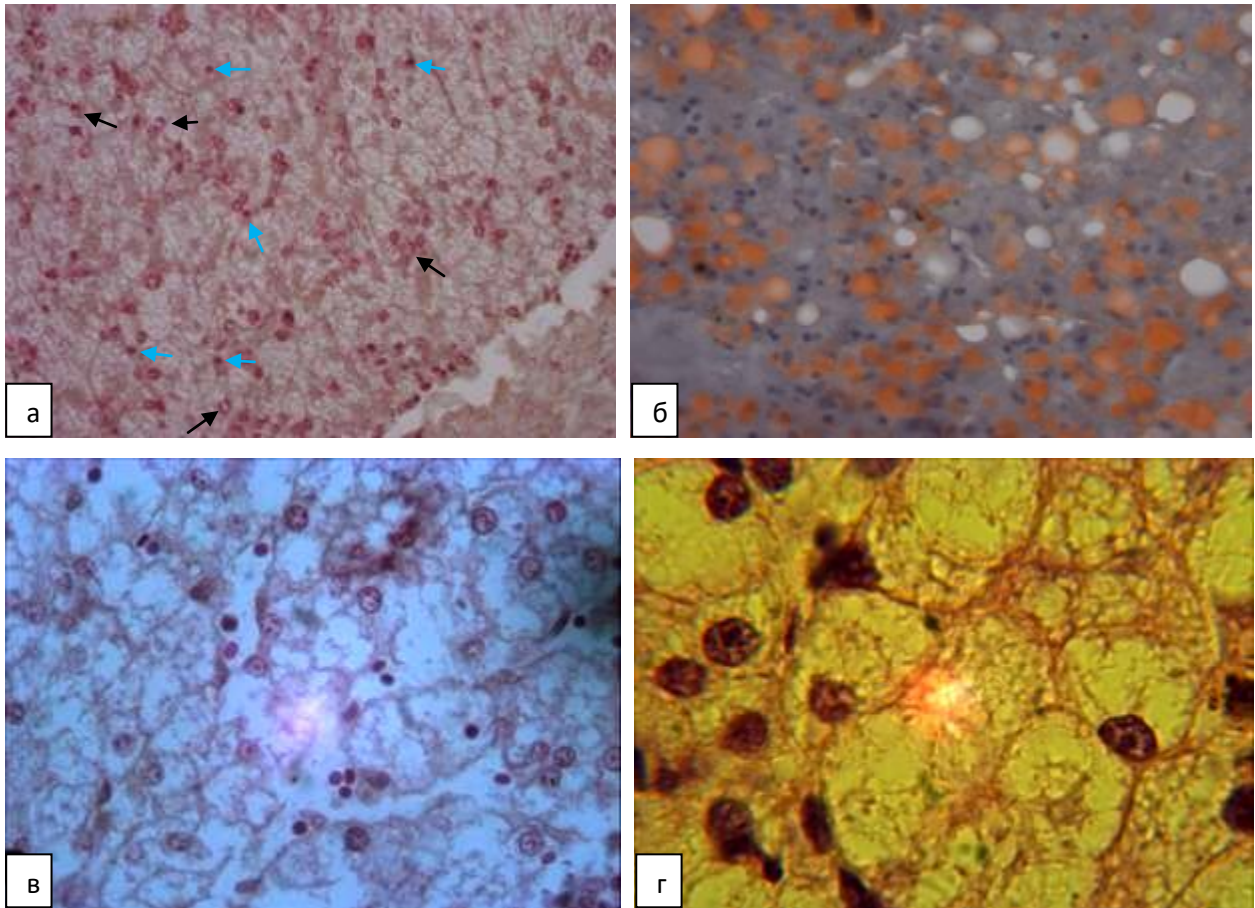


Рис. 19 – Микроструктура печени рыб опытной группы: **а** – деформация, кариопикноз (голубые стрелки), маргинация хроматина (чёрные стрелки). Гематоксилин и эозин. Об.20, ок.10; **б** – вакуольная дистрофия гепатоцитов. Судан III. Об. 40, ок.10; **в** – диффузный некроз паренхимы. Гематоксилин и эозин. Об.40, ок.10; **г** – дисконкомплексация, вакуольная дистрофия гепатоцитов. Гематоксилин и эозин. Об.90, ок.10

Частота микроструктурных изменений печени показана на рисунке 20.



Рис. 20 - Частота микроструктурных изменений печени: 1 – деформация гепатоцитов; 2 – дисконкомплексация гепатоцитов; 3 – вакуольная дистрофия; 4 – очаговый некроз паренхимы; 5 – диффузный некроз паренхимы

В почках выявляли гиалиново-капельную дистрофию в эпителиальных клетках почечных канальцев, проявляющуюся скоплением эозинофильных капель в их цитоплазме (рис.22,г), местами в канальцах отмечен некроз эпителиальных клеток (рис.22, а - чёрные стрелки). В сосудистых клубочках и канальцах отмечали признаки серозного гломерулонефрита, выражавшегося скоплением зернистого детрита в просвете Боуменовых капсул и почечных канальцев (рис.22:а,б,в), в отдельных местах - деструкция клубочков. В гемопозитической ткани наблюдали очаги кровоизлияний (рис.22, а - голубые стрелки).

Микроструктура почек рыб контрольной группы показано на рис. 21.

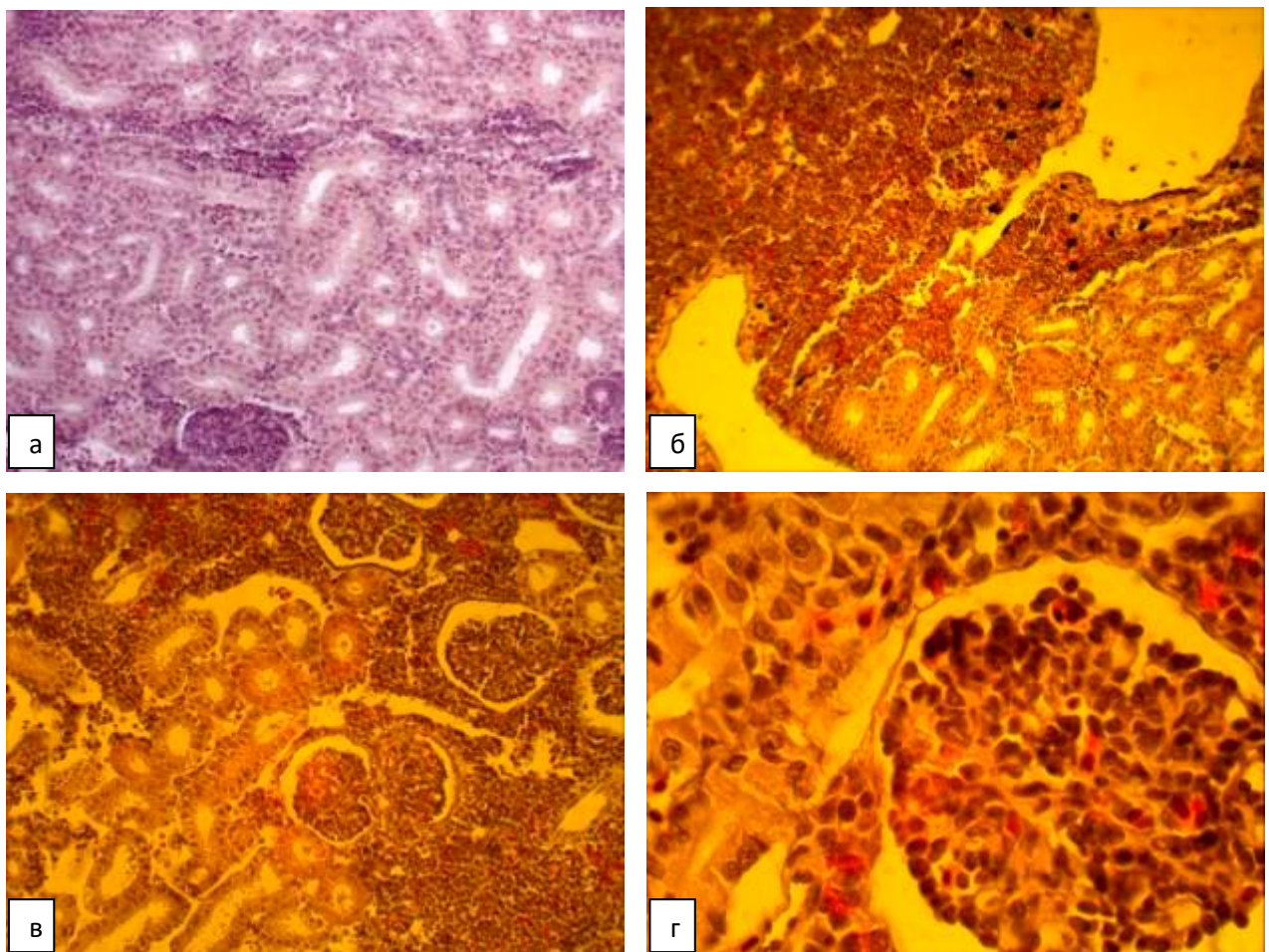


Рис.21 – Микроструктура почек рыб контрольной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – канальца. Об.20, ок.10; **б** – канальца, гемопозитическая ткань. Об.20, ок.10; **в** – гемопозитическая ткань, канальцы, клубочки. Об.20, ок.10; **г** – сосудистый клубочек, канальцы. Об. 40, ок.10

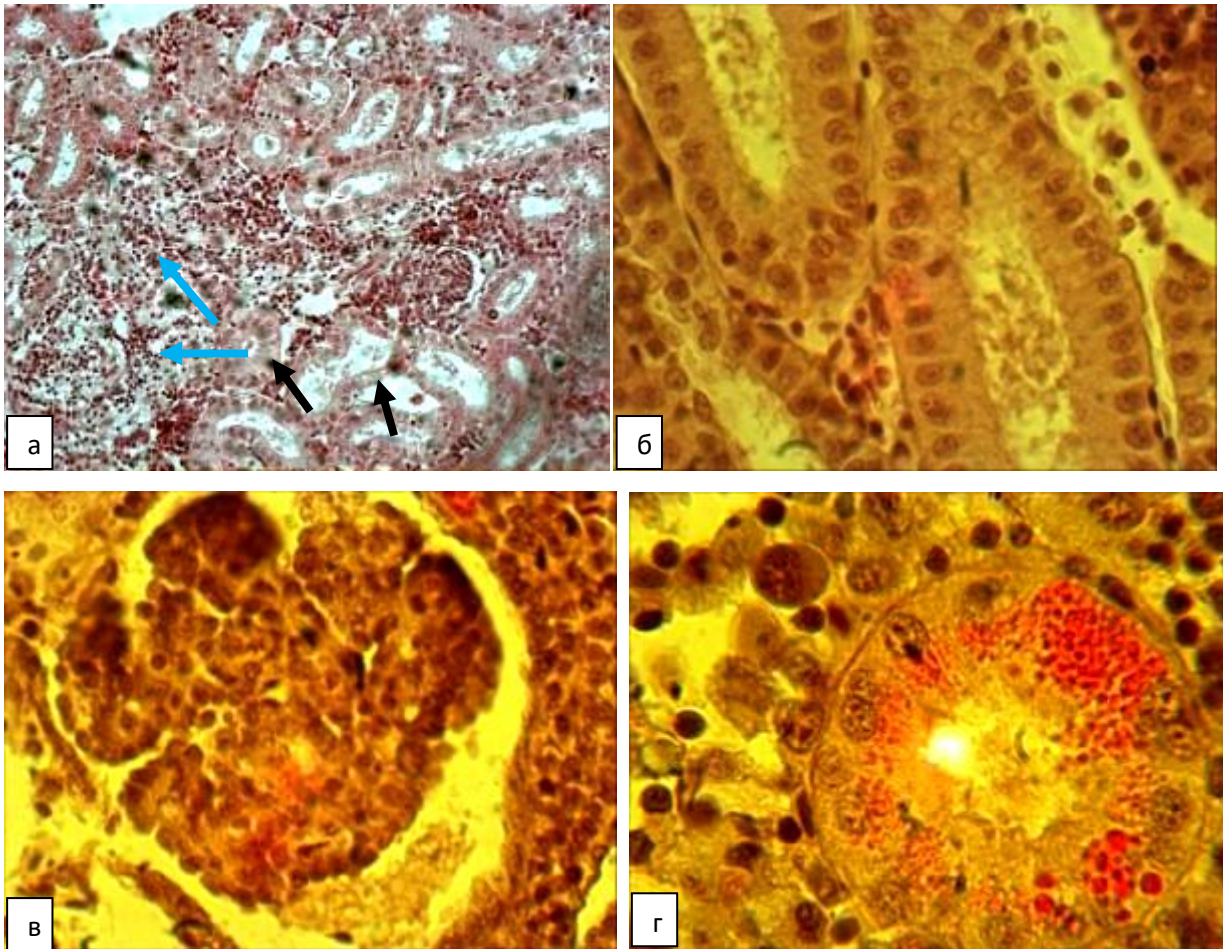


Рис.22 – Микроструктура почек рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – очаг кровоизлияния в гемопоэтическую ткань (голубые стрелки), некроз канальцев (чёрные стрелки). Об. 10, ок.10; **б** – зернистые массы в просвете почечных канальцев. Об.20, ок.10; **в** – серозный гломерулонефрит. Об.40, ок.10; **г** – гиалиново-капельная дистрофия эпителиальных клеток почечных канальцев. Об. 90, ок.10;

Частота микроструктурных изменений почек показана на рисунке 23.



Рис. 23 - Частота микроструктурных изменений почек: 1 –серозный гломерулонефрит; 2 – гиалиново-капельная дистрофия; 3 - кровоизлияния; 4 – некроз эпителиальных клеток канальцев; 5 – некроз почечных клубочков

В спиральном отделе средней кишки наблюдали: кровоизлияния, признаки катарального воспаления, проявлявшегося скоплением мутной слизи с примесью крови, вакуолизацию и разрывы оболочек слизистых клеток, некроз и десквамацию эпителия слизистой оболочки (рис. 25). У рыб контрольной группы подобных изменений обнаружено не было (рис. 24). **В жабрах** у двух рыб выявляли гиперплазию и отёк эпителия. У трёх рыб изменений в сравнении с контролем не выявлено (Рис.27). У двух рыб **в лимфоидная железа сердца** увеличена за счёт гиперплазии гемопоэтической ткани (рис.29) **в селезёнке** – инфильтрация пульпы лимфоцитами, расширена белая пульпа (рис.30)

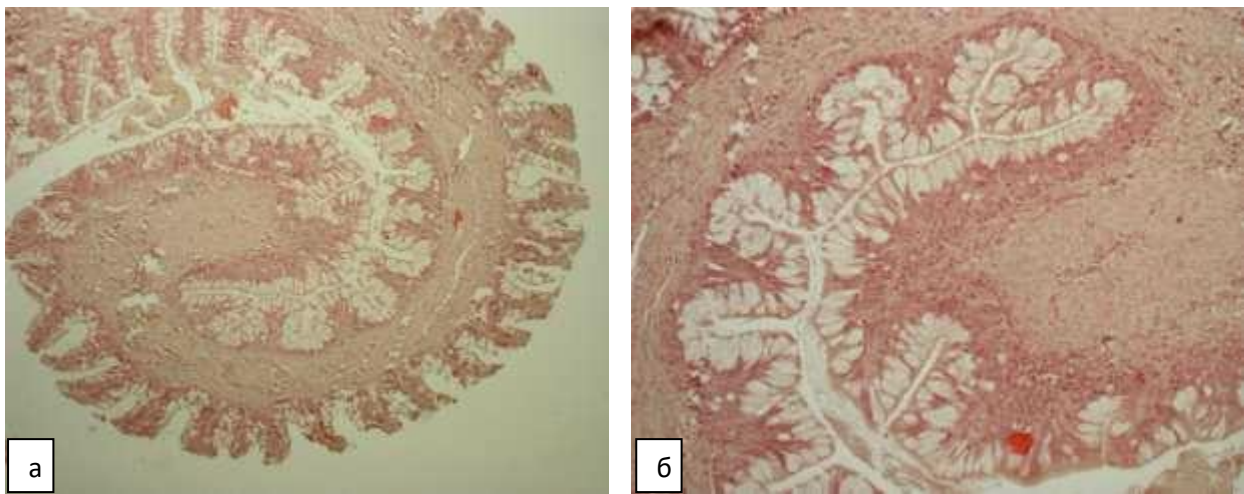


Рис. 24 – Микроструктура спирального отдела средней кишки рыб контрольной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – Об. 10, ок.10; **б** – Об. 20, ок.10

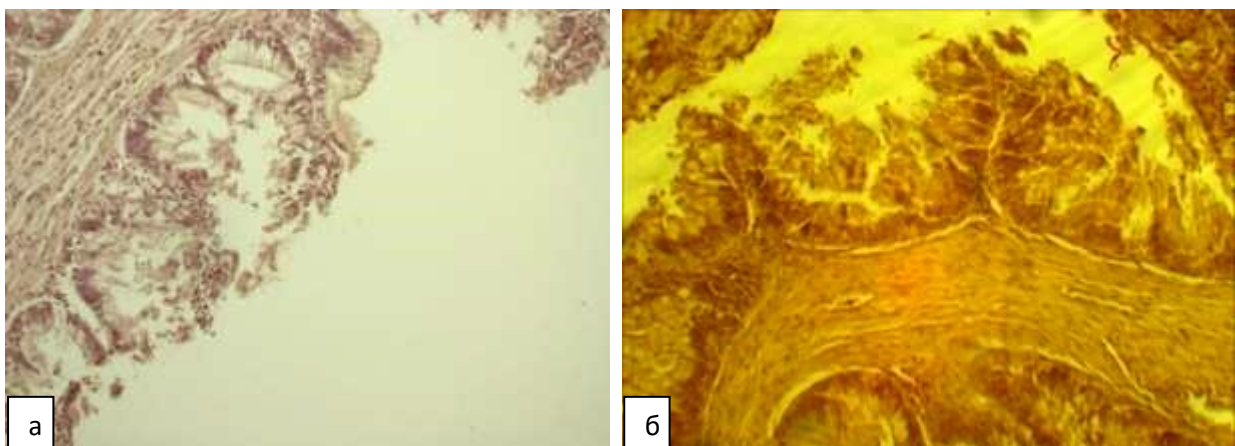


Рис. 25 – Микроструктура средней кишки рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – катаральное воспаление, кровоизлияние. Об.10, ок.10; **б** – катаральное воспаление, разрывы слизистых клеток, некроз и десквамация эпителия слизистой оболочки. Об.20, ок.10

Частота микроструктурных изменений средней кишки и жабр показана на рисунках 26, 28



Рис. 26 – Частота микроструктурных изменений средней кишки: 1- десквамативный катар; 2 – разрывы слизистых клеток; 3 – кровоизлияния; 4 – некроз эпителия слизистой оболочки

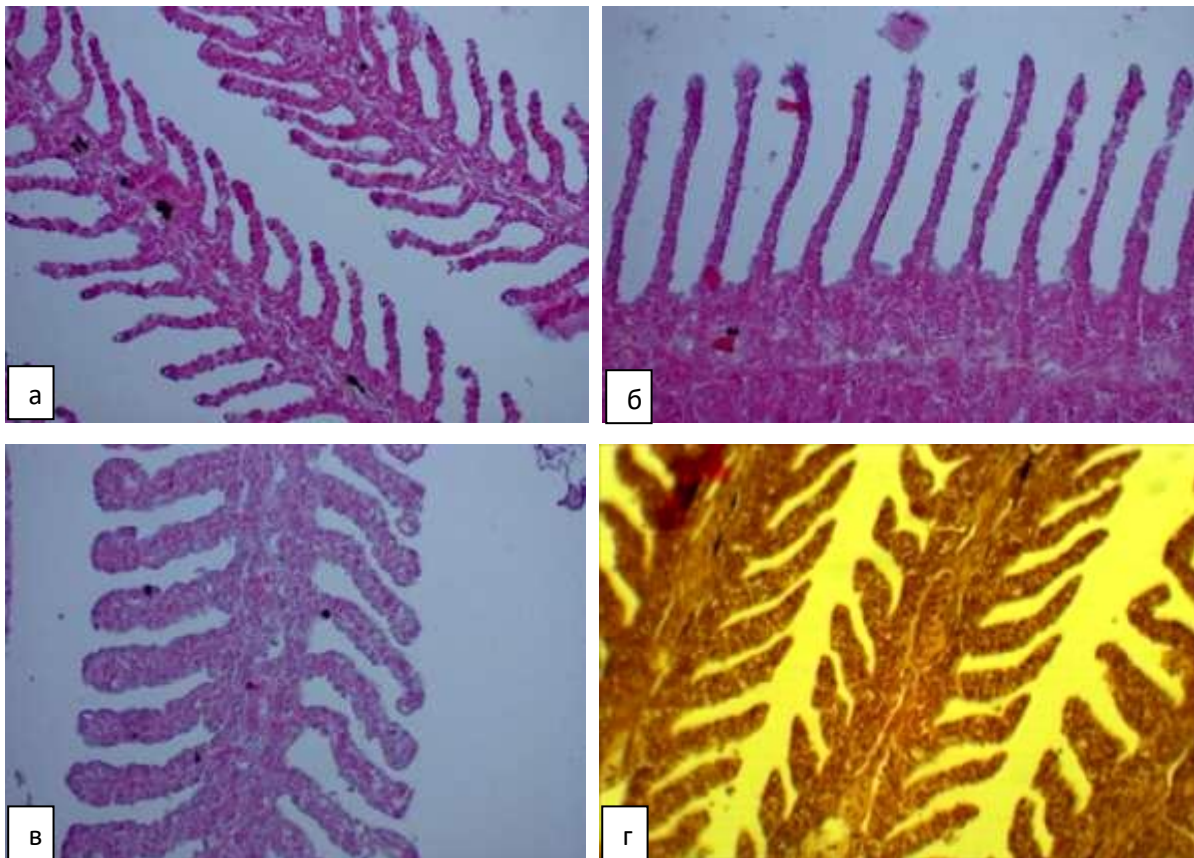


Рис. 27 – Микроструктура жабр. Гематоксилин и эозин: **а,б** – Жабры рыб контрольной группы. Об. 20, ок.10; **в, г** – рыбы опытной группы, в –отёк. Об. 20, ок.10; г – гиперплазия респираторного эпителия. Об. 10, ок.10



Рис. 28 – Частота микроструктурных изменений жабр: 1 – гиперплазия клеток респираторного эпителия; 2 – отёк жаберных лепестков

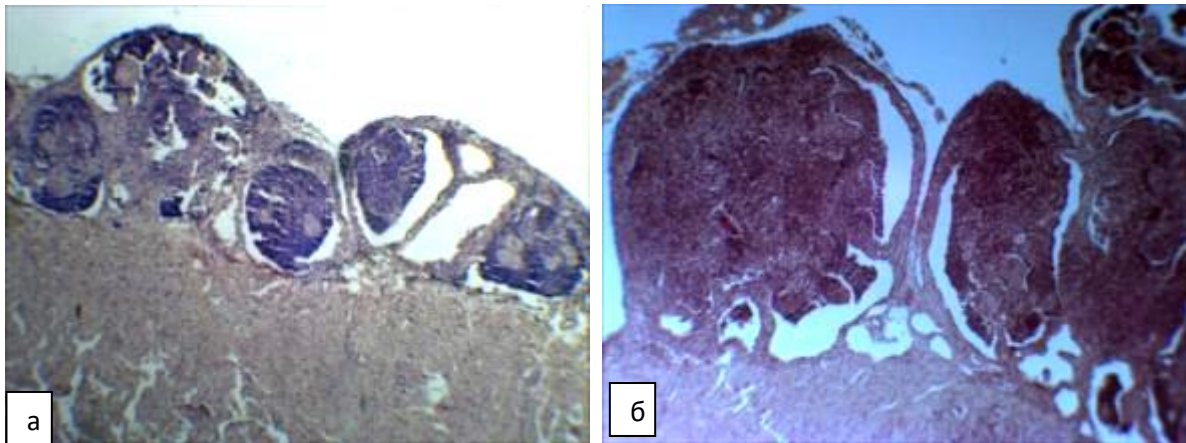


Рис. 29 - **а** – Микроструктура лимфоидной железы сердца рыб контрольной группы. Гематоксилин и эозин. Об. 10, ок.10; **б** – рыбы опытной группы, увеличенная лимфоидная железа. Об. 10, ок.10

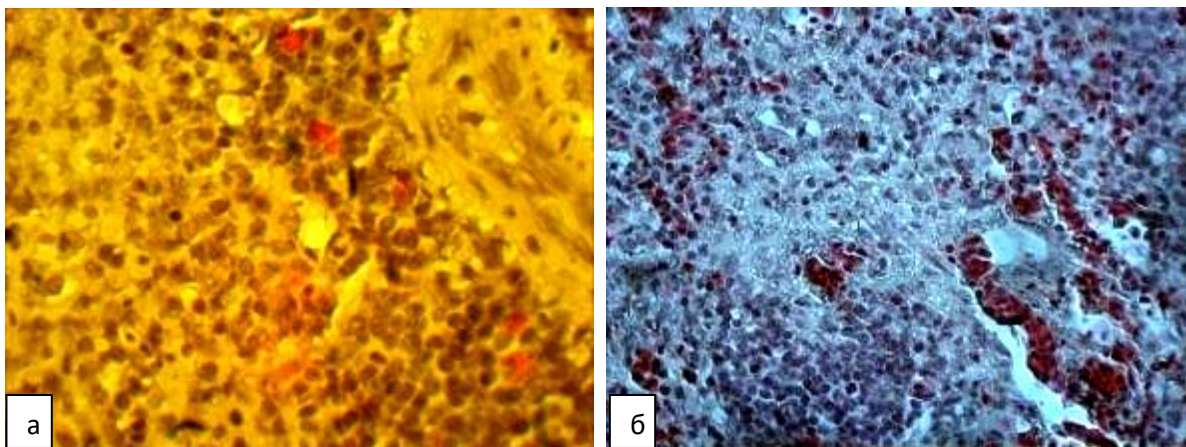


Рис. 30 – Микроструктура селезёнки. Гематоксилин и эозин: **а** – контрольная группа рыб. Об.40, ок.40; **б** – опытная группа рыб, расширенная белая пульпа. Об.40, 10

3.2.2 Опыт 2. Результаты исследований при заражении сеголеток сибирского осетра изолятом SIz6/0311.

Клиническое течение инфекции. Продолжительность эксперимента составила 49 суток. Первые симптомы наблюдались на 32 сутки. В дальнейшем отмечалось обострение течения инфекции, которая достигла максимального подъёма к 38 суткам, когда погибла 1 рыба. На 39 сутки клинические признаки разной выраженности выявлялись у всех подопытных рыб, 8 из которых с явно выраженными симптомами погибли. На 40 - 49сутки погибли ещё 31 рыба с явно выраженными признаками болезни.

Развития клинических признаков и кумулятивная гибель сеголетков сибирского осетра, отражена в таблице 8, 9.

Таблица 8 – Развитие симптомов у сеголетков, заражённых штаммом SIz6/0311

Количество дней с момента заражения	Клинические признаки и внешние изменения
32	Апатия, вялость, отказ от корма
38	Нарушение координации движений, еморрагии в области жучек и рта, некроз плавников, гиперплазия эпидермиса
39-40	Пятнистые кровоизлияния, геморрагии жабр, изъязвление жучек
39-49	Очаговый некроз кожи, вторичная инфекция(сапролегниоз), адинамия, плавание вверх брюхом

Таблица 9 – Кумулятивная гибель сеголетков сибирского осетра (n=40), заражённых изолятом SIz6/0311

Количество дней после заражения	32	39	44	49
Кумулятивная гибель, экз./%	0	9/23	28/70	40/100

Из таблицы 9 видно, что заболеваемость и смертность рыб составила 100%. У рыб контрольной группы патолого-анатомических изменений и гибели не было.

В процессе опыта от больных, вынужденно убитых рыб (15 экз.) были взяты пробы для микроскопических исследований. Параллельно с этим такие же пробы взяты от рыб контрольной группы (6 рыб).

Результаты вирусологических исследований. Вирус был выделен из кожи, плавников, паренхиматозных органов, сердца. Для выделения использовались клеточные линии SSO-2 и WSS-2. Титры вируса в пробах кожи и плавников было в среднем $7 \lg$ ТЦД₅₀/мг ткани, в печени, почках, кишечнике – $6 \lg$ ТЦД₅₀/мг ткани, в сердце, жабрах – $5 \lg$ ТЦД₅₀/мг ткани, селезёнке – 4, мозге – $3 \lg$ ТЦД₅₀/мг ткани.

Гидрохимические показатели качества воды в течение опыта соответствовали оптимальным значениям (табл. 10).

Таблица 10 – Гидрохимические показатели качества воды

Показатели	O ₂	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	pH	dGH	Fe
Концентрация, мг/л	6-8	<0,4	<0,2	<0,3	7-8	6-7	<0,01

Клинические признаки и патологоанатомические изменения. Первые рыбы с признаками болезни появились на 32 сутки после заражения. У этих рыб наблюдались апатия, вялость, отказ от корма. На 38 сутки у 1 рыбы появились пятнистые и очаговые кровоизлияния в области жучек и рта, очаги гиперплазии в области боковых жучек, на кончике хвостового и анального плавников были заметы участки распада ткани, на поверхности тела бледные пятна. За 2-3 часа до гибели рыба была подвергнута вскрытию для патолого-анатомических и патогистологических исследований. При вскрытии у неё отмечали точечные кровоизлияния на серозной оболочке брюшной полости. Печень бледная и рыхлая. Почки бледные, уменьшенные в объёме. На 39 сутки погибли 8 рыб. У всех рыб наблюдались признаки, описанные выше. На 40 сутки погибли 6 рыб, у которых наблюдали пятнистые кровоизлияния, очаги некроза тканей хвостового, анального, брюшных и грудных плавников. Жучки с точечными кровоизлияниями и язвами в области вершин. У 3 рыб анус ярко-красный. Кончики жабр у всех 7

особей сильно гиперемированы. На теле, хвостовом и грудных плавниках бледные пятна. За 2-3 часа до гибели у всех 7 рыб были взяты органы для патологоанатомических и патогистологических исследований. У всех рыб наблюдали следующие изменения: печень бледная, рыхлая (рис 16), почки уменьшены в объёме, селезёнка светло-розового цвета. На 41 сутки – погибли 3 рыбы с кровоизлияниями на теле, признаками некроза на кончиках хвостового, анального, брюшных плавников. На 42 сутки погибли 4 рыбы с точечными и пятнистыми кровоизлияниями на теле, воспалённым анусом, некротическими участками на коже и кончиках плавников. На 43 сутки погибли 4 рыбы. У всех рыб наблюдали кровоизлияния на теле, участки с бледными пятнами, бледные очаги на кончиках жабр. На 44 сутки погибли 2 рыбы с пятнистыми кровоизлияниями на всей поверхности тела, с изъязвлениями жучек, участками некроза на кончиках плавников. На 45 сутки – погибли 4 рыбы. Три рыбы были с признаками истощения, у всех 4 рыб наблюдались точечные и пятнистые кровоизлияния, некроз тканей кончиков плавников. У 3 рыб анус был вывернут, ярко-красного цвета (рис 17). Кончики жабр у всех рыб с признаками гиперемии. На 47 сутки – погибли 4 рыбы. У всех рыб признаки истощения, точечные и пятнистые кровоизлияния в области жучек, некроз тканей кончиков плавников. На 48 сутки погибли 3 рыбы с признаками истощения, кровоизлияний в области жучек, некроза тканей кончиков плавников. На 49 сутки погибла 1 рыба с признаками истощения, некротическими участками на кончиках плавников, точечными и пятнистыми кровоизлияниями. У всех погибающих рыб отмечалась адинамия, положение на боку на дне аквариума или плавание вверх брюхом.

Патогистологические изменения

Основные микроструктурные изменения были обнаружены в коже, печени, почках спиральном отделе средней кишки, жабрах. В селезёнке и сердце микроскопические изменения были сходны с таковыми в предыдущем опыте.

В коже, на стадии максимального подъёма эпизоотического процесса отмечали: очаговую гиперплазию эпидермиса в виде узелков – бляшек (рис.31, г), гипертрофию и разрыв слизистых клеток (рис.31, а), сдувание клеток

эпидермиса, изъязвление и деформацию жучек, десквамацию эпителия в канале боковой линии (рис.31, б,в). На туловищном, хвостовом отделах и на плавниках выявляли бляшки(узелки) от 1 до 4 мм. На дистальных концах хвостового плавника у многих рыб наблюдали некроз плавников (31, д).

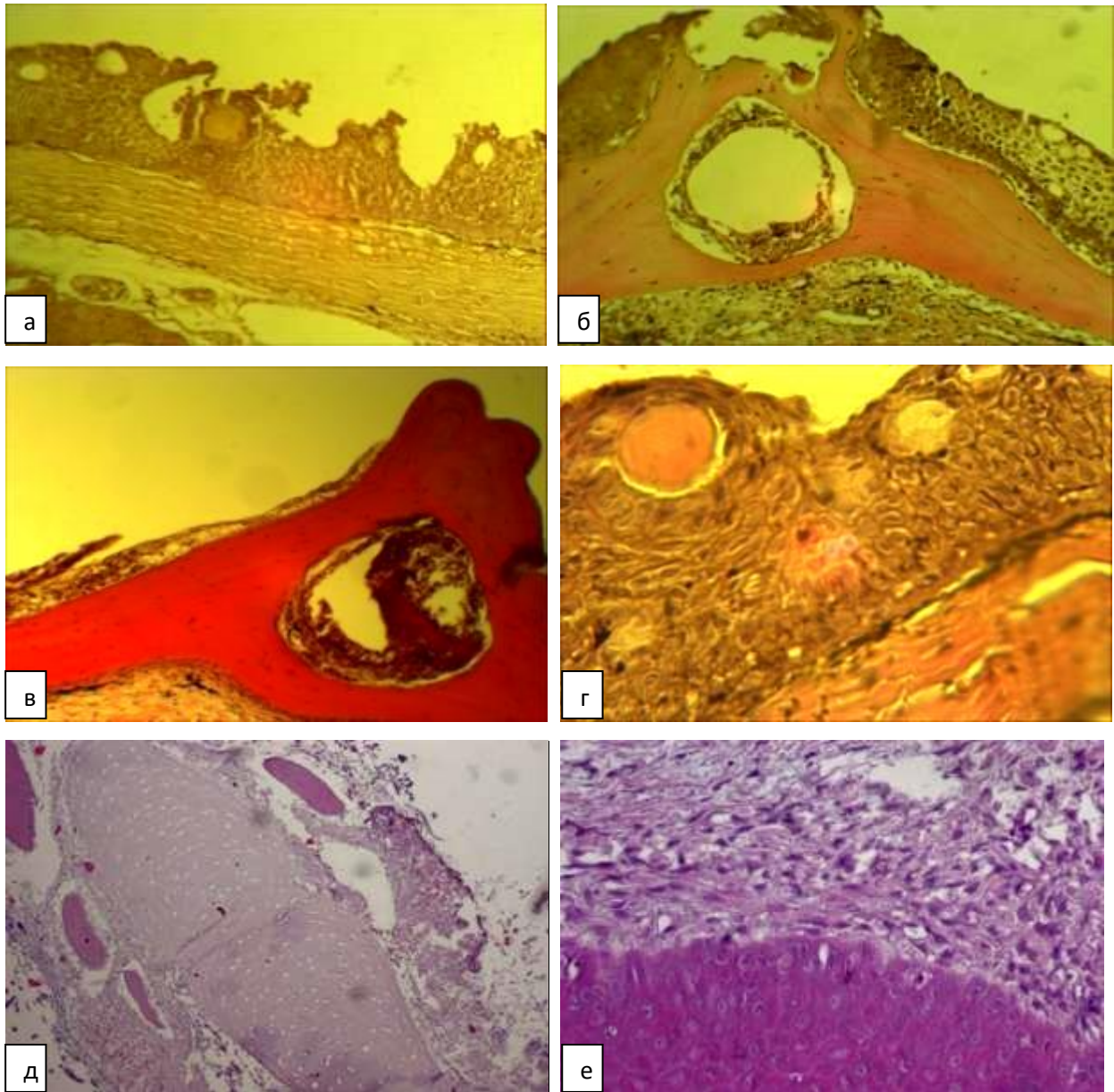


Рис. 31 – Микроструктура кожи рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – гипертрофия и разрыв слизистых клеток. Об. 10, ок.10; **б** – язва на жучке, сдушивание эпителия в канале боковой линии. Об. 10, ок.10; **в** – десквамация эпидермиса на жучке и эпителия в канале боковой линии. Об.10, ок.10; **г** – гиперплазия эпидермиса. Об.40, ок.10; **д** – некроз эпидермиса хвостового плавника. Об.10, ок.10; **е** – некроз и десквамация эпидермиса в области рта. Об.10, ок10

Частота микроструктурных изменений кожи показана на рисунке 32.

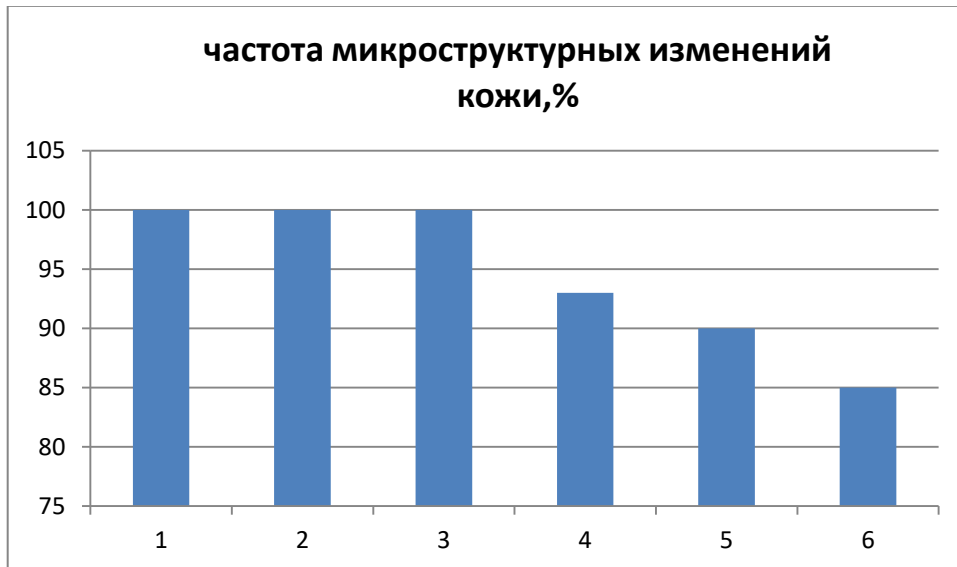


Рис. 32 – Частота микроструктурных изменений кожи: 1 – гиперплазия эпидермальных клеток; 2 – гипертрофия и разрывы оболочек слизистых клеток эпидермиса; 3 – десквамация эпидермиса; 4 – язвы; 5 – бляшки (узелки) гиперплазированного эпидермиса; 6 – некроз эпидермиса

В печени у всех больных рыб выявляли деформацию, дисконкомплексацию гепатоцитов (рис.33, а). При более тяжёлом поражении печёночные клетки в состоянии вакуольной дистрофии (рис. 33, б), у многих рыб отмечали очаговый или диффузный некроз паренхимы (рис. 34: а,б), который выражался в диссоциации и лизисе гепатоцитов, сопровождающийся маргинацией хроматина, кариопикнозом, кариорексисом, кариолизисом, плазмопикнозом.

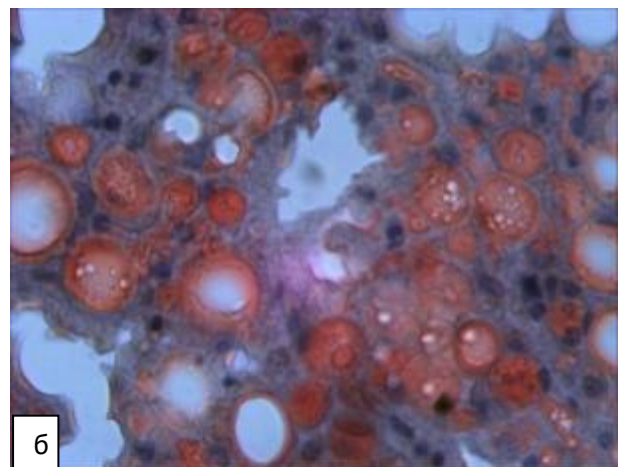
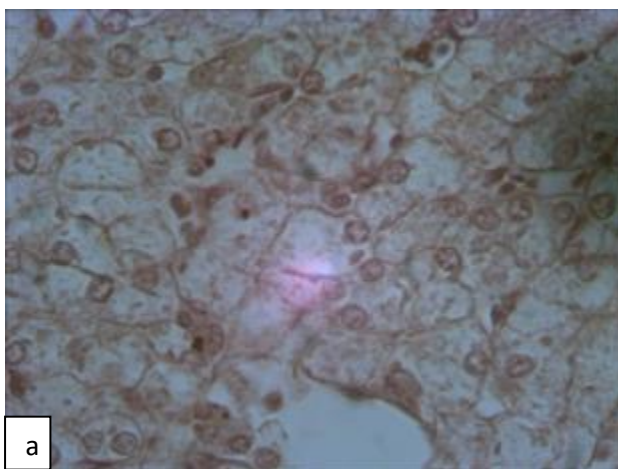


Рис. 33 – Микроструктура печени рыб опытной группы: а – деформация, дисконкомплексация гепатоцитов. Гематоксилин и эозин. Об 40, ок.10; б – резорбция жира в гепатоцитах. Судан III. Об. 40, ок.10

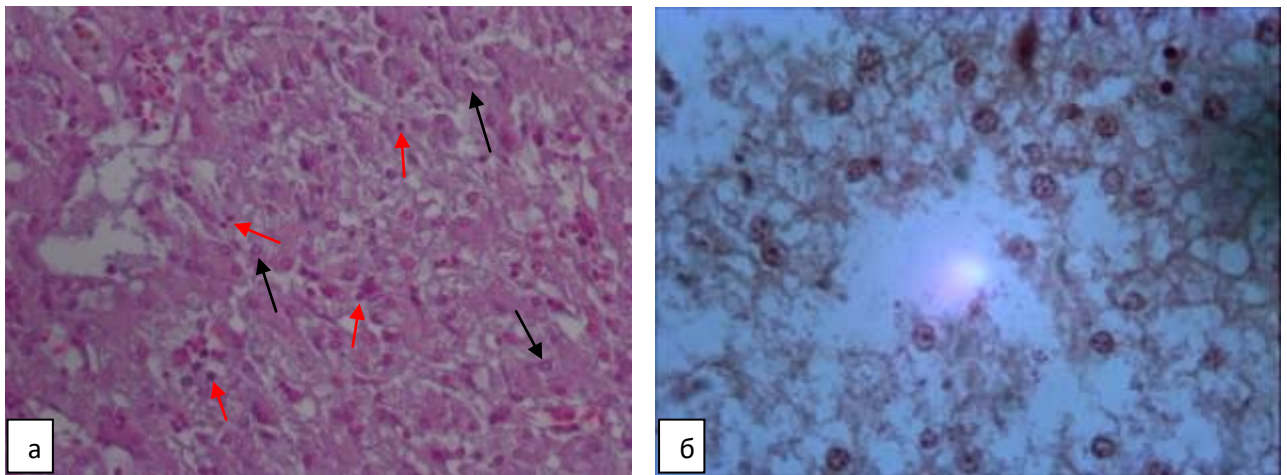


Рис. 34 – Микроструктура печени рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – очаговый некроз гепатоцитов, маргинация хроматина (чёрные стрелки), кариопикноз (красные стрелки). Об. 20, ок.10; **б** – диффузный некроз паренхимы. Об.40, ок.10

Частота микроструктурных изменений печени показана на рисунке 35.



Рис. 35 - Частота микроструктурных изменений печени: 1 – деформация гепатоцитов; 2 – дисконкомплексация гепатоцитов; 3 – вакуольная дистрофия; 4 – очаговый некроз паренхимы; 5 – диффузный некроз паренхимы

В почках у большинства больных рыб отмечали значительные патогистологические изменения: гиалиново-капельную дистрофию в эпителии почечных канальцев, очаги кровоизлияний в паренхиме почек, серозный гломерулонефрит, имевший проявления, морфологически сходный с описанным в предыдущем опыте. У части рыб был выражен некроз эпителия канальцев

(некротический нефроз) и диффузный гломерулонефрит с распадом тканей клубочков (рис.36: г, д).

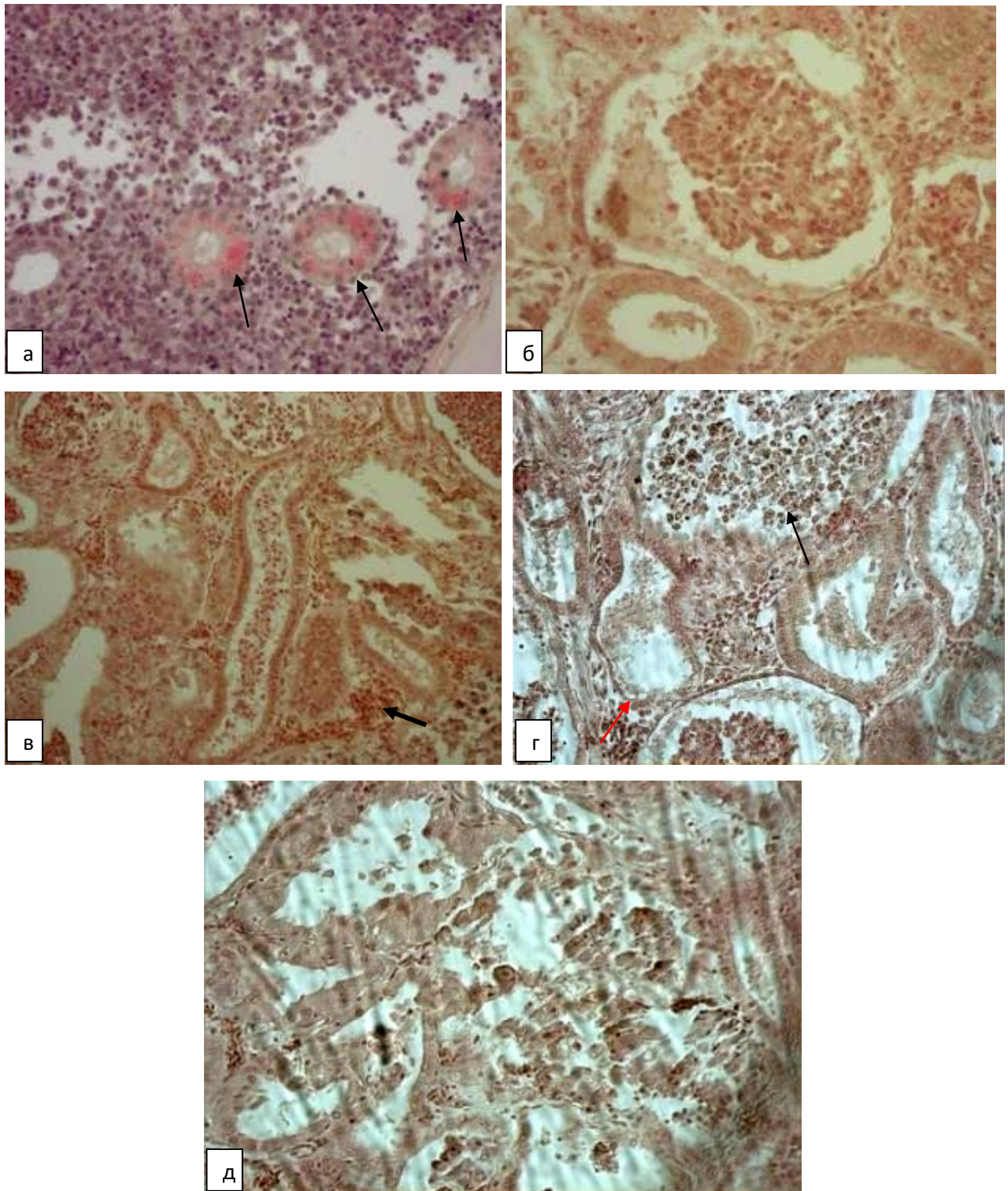


Рис. 36 – Микроструктура почек рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – гиалиново-капельная дистрофия эпителиальных клеток почечных канальцев. Об.20, ок.10; **б** – серозный гломерулонефрит. Об. 40, ок.10; **в** – кровоизлияние (чёрная стрелка). Об. 20, ок.10; **г** – некроз клубочков (чёрная стрелка) и канальцев (красная стрелка). Об.20, ок.10; **д** – диффузный некроз почечных канальцев. Об.40, ок.10

Частота микроструктурных изменений печени показана на рисунке 37.



Рис. 37 - Частота микроструктурных изменений почек: 1 – серозный гломерулонефрит; 2 – гиалиново-капельная дистрофия; 3 - кровоизлияния; 4 – некроз эпителиальных клеток канальцев; 5 – некроз почечных клубочков

Микроструктурные изменения **спирального отдела средней кишки** включали катарально – геморрагическое воспаление, десквамацию и некроз эпителиальных клеток, увеличение и разрывы слизистых клеток, кровоизлияния в слизистом и подслизистом слоях (рис. 38).

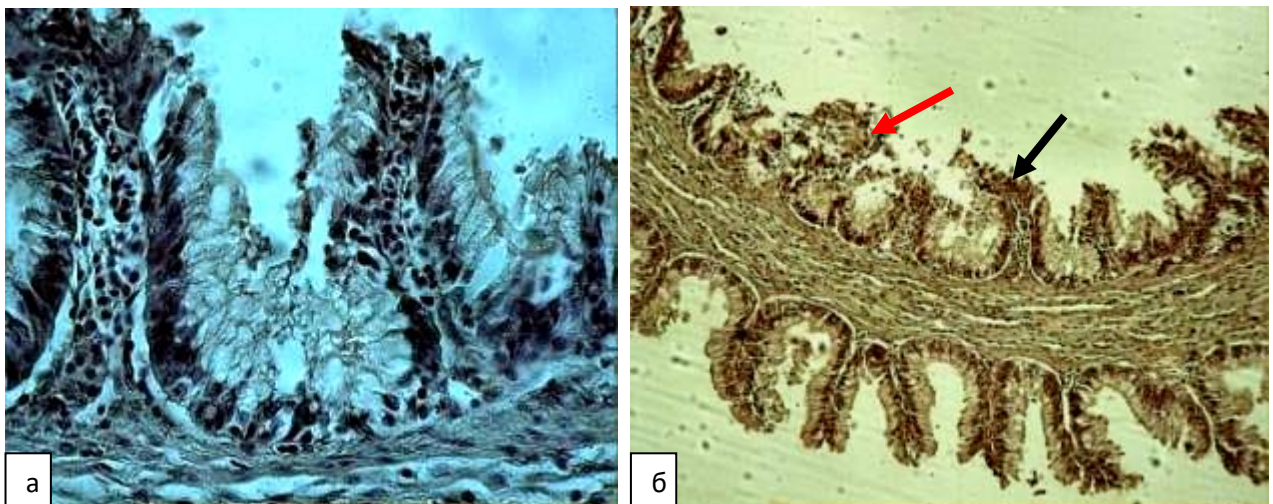


Рис. 38 – Микроструктура средней кишки рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – катаральное серозное воспаление, разрывы слизистых клеток. Об.10, ок.10; **б** – кровоизлияния (чёрная стрелка), некроз эпителия слизистой оболочки (красная стрелка). Об.20, ок.10

Частота микроструктурных изменений средней кишки показана на рисунке 39.



Рис. 39 – Частота микроструктурных изменений средней кишки: 1- десквамативный катар; 2 – разрывы слизистых клеток; 3 – кровоизлияния; 4 – некроз эпителия слизистой оболочки

В жабрах больных рыб наблюдали отёк и слияние и расслоение жаберных пластинок, гиперплазию респираторного эпителия (рис. 40, а), у отдельных особей очаговый некроз и десквамацию эпителия (рис.40, б).

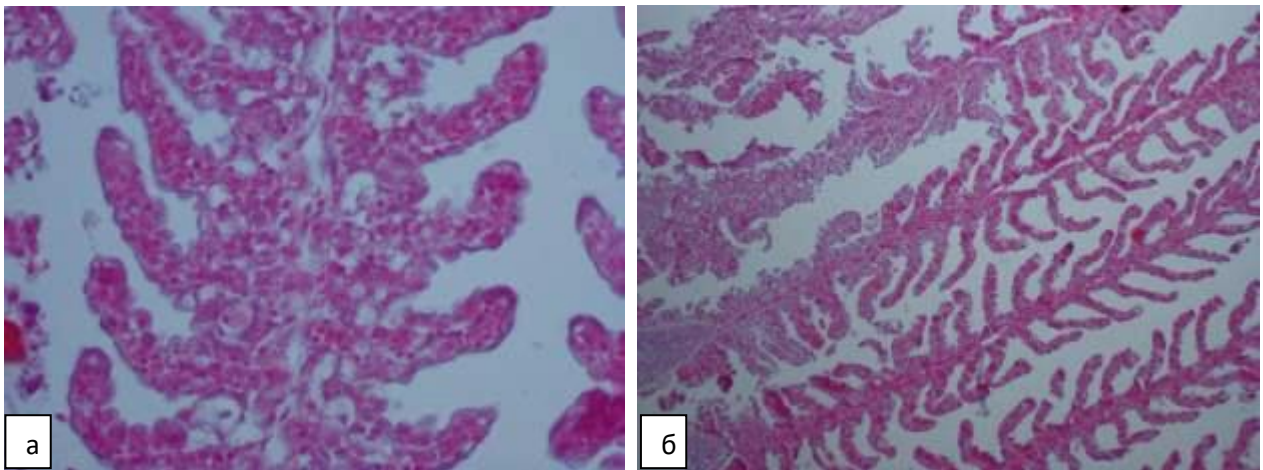


Рис. 40 – Микроструктура жабр рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: а – отёк жаберных лепестков. Об.20, ок.10; б – очаговый некроз эпителия. Об.10, ок.10

Частота микроструктурных изменений жабр показана на рисунке 41.



Рис.41 - 1 – гиперплазия респираторного эпителия; 2 – отёк жаберных лепестков; 3 – слияние жаберных пластинок; 4 – расслоение жаберных лепестков; 5 – некроз жаберных лепестков

Микроструктурные изменения сердца и селезёнки сходны с изменениями в предыдущем опыте.

3.2.3 Опыт 3. Результаты исследований при заражении сеголеток сибирского осетра штаммом SK1/0406.

Клиническое течение инфекции. Длительность опыта составила 22 суток. Первые клинические признаки наблюдались на 10 сутки после заражения, к 15 суткам после заражения погибли 4 рыбы с явными клиническими признаками, к 20 суткам кумулятивная гибель достигла 33 рыб, а к 22 суткам – 100%. Заболеваемость составила 100%, смертность – 100%. У рыб контрольной группы клинических признаков болезни и гибели не наблюдалось.

Развитие клинических признаков заболевания и гибели отражена в таблицах 11, 12.

Таблица 11 – Развитие симптомов болезни у сеголетков сибирского осетра, заражённых штаммом SK1/0406

Количество дней с момента заражения	Клинические признаки и внешние изменения
10	Апатия, вялость, отказ от корма, учащённое дыхание
11-12	Неподвижное положение на дне, хаотичные движения, нарушение координации движений, положение головы вниз
13-14	Признаки истощения, атрофия мышц, узелки(бляшки)
14-15	Очаги некроза, геморагии, усиленное слизевыделение
15-18	Множественные петехии, вывернутая прямая кишка, воспалённый анус
15-22	Адинамия, развитие вторичной инфекции (сапролегниоз)

Таблица 12 – Кумулятивная гибель сеголетков сибирского осетра (n=40), заражённых штаммом SK1/0406.

Количество дней после заражения	10	15	20	22
Кумулятивная гибель, экз /%	0	4/10	33/83	40/100

Из таблицы 12 видно, что заболеваемость и смертность рыб составила 100%. У рыб контрольной группы патологоанатомических изменений и гибели не было.

В процессе опыта от больных рыб незадолго до гибели были взяты пробы для микроскопических исследований (15 экз.). Параллельно с этим такие же пробы взяты от рыб контрольной группы (6 рыб).

Результаты вирусологических исследований. При инокуляции патологическим материалом в клеточной линии SSO₂ первые признаки ЦПЭ появлялись через 3 дня. При этом наблюдали округление клеток, образование симпластов и кластеров. Через 6-7 дней отмечали полную деструкцию монослоя. Титры вируса в пробах кожи и плавников было в среднем 6 lg ТЦД₅₀/мг ткани, в

печени, почках, кишечнике – 6 lg ТЦД₅₀/мг ткани, в сердце, жабрах, селезёнке – 5 lg ТЦД₅₀/мг ткани, мозге – 3 lg ТЦД₅₀/мг ткани.

Измеренные показатели качества воды (O₂, аммоний-ион, нитрит-ион, нитрат-ион, железо-ион, общая жёсткость) соответствовали требованиям для выращивания осетровых рыб (табл. 13).

Таблица 13 – Гидрохимические показатели качества воды

Показатели	O ₂	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	pH	dGH	Fe
Концентрация, мг/л	7-8	<0,3	<0,1	<0,5	7-8	7-8	<0,02

Клинические признаки и патологоанатомические изменения. После заражения сеголетков первые симптомы отмечались на 10 сутки. Больные рыбы были апатичными, вялыми, отказывались от корма, некоторые рыбы оставались неподвижными на дне, учащённо дыша, часто периоды неподвижного положения сменялись беспокойными и хаотичными движениями. Отдельные особи плавали в положении брюшком вверх. Ещё через 1-2 суток у части поражённых рыб каудальная часть тела была приподнята вверх, что заставляло рыбу плавать в положении головой вниз. Тело больных сеголетков становилось бледным, с признаками истощения, что выражалось в потере массы и атрофии мышц в области спины. Через 13-15 суток после заражения на разных участках кожи и плавниках появлялись бледно – голубоватые полупрозрачные узелки (бляшки) диаметром от 1 до 4 мм. Через 14 – 18 сутки после инфицирования узелки подвергались некрозу, при этом первые некротизированные участки выявлены на анальном, брюшных и дистальных концах хвостового плавника. Эти очаги часто инфицировались вторичной инфекцией, вызванной грибом *Saprolegnia*. В аквариумах наблюдали обильное выделение слизи больными рыбами, что выражалось в большом количестве ее хлопьев в воде и постоянно образующихся осадков на стенках аквариума. За 1-2 дня до гибели у всех рыб наблюдались множественные петехии и пятнистые геморагии в коже головного, туловищного и хвостового отделов и плавников. В области жучек, особенно, хвостового отдела

выявлялись изъязвления. У отдельных рыб наблюдали воспалённую, вывернутую прямую кишку.

Первые погибшие рыбы отмечались на 5 сутки после появления первых клинических признаков. Максимальная гибель наблюдалась на 16 – 20 сутки после инфицирования. Кумулятивная гибель сеголетков на 12 сутки после появления первых симптомов составила 100 % (таблица 11 и рисунок 12).

В агональной стадии погибающих рыб извлекали из аквариума для дальнейшего патологоанатомического вскрытия в лабораторных условиях.

При вскрытии у больных рыб жабры были сильно гиперемированы, тёмно – красного цвета, у части рыб с бледными кончиками жаберных лепестков. На брюшине видны точечные кровоизлияния. Печень рыхлая, бледная, у некоторых рыб почти белая. Селезёнка у отдельных рыб со светлыми пятнами. Почки бледные, истончены. Желудок без видимых изменений. Слизистая оболочка средней кишки гиперемирована. Полость спиральной кишки заполнена слизеподобной жидкостью желтоватого или кровянистого цвета. Лимфоидная железа, покрывающая желудочек сердца, увеличена. Поджелудочная железа без видимых изменений. Желчный пузырь переполнен желчью. В брюшной полости иногда обнаруживался экссудат светло – жёлтого цвета.

Патогистологические изменения

В коже у больных рыб по всей поверхности выявляли гиперплазию эпидермиса, в отдельных участках наблюдали резкое переполнение слизью и разрывы оболочек слизистых клеток, очаговую десквамацию эпидермиса, изъязвление и оголение жучек (рис.42). У большинства рыб некротические поражения кожи отмечали преимущественно в области хвостового стебля.

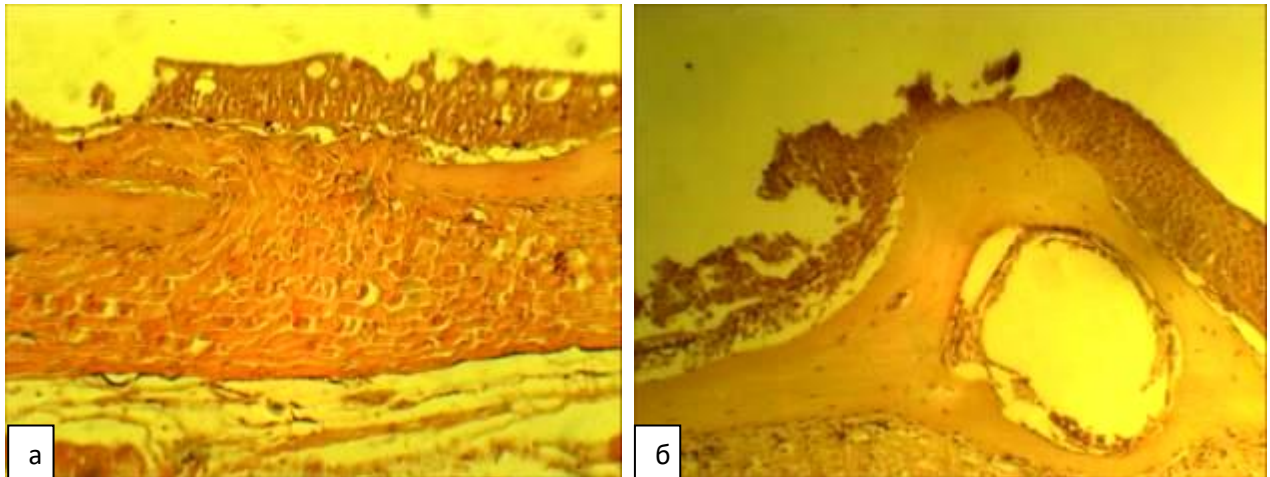


Рис. 42 – Микроструктура кожи рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин. Об. 10, ок.10; **а** – переполнение слизью и разрывы слизистых клеток; **б** – десквамация, некроз эпидермиса

Частота микроструктурных изменений кожи показана на рисунке 43.



Рис. 43 – Частота микроструктурных изменений кожи: 1 – гиперплазия эпидермальных клеток; 2 – гипертрофия и разрывы оболочек слизистых клеток эпидермиса; 3 – десквамация эпидермиса; 4 – бляшки (узелки) гиперплазированного эпидермиса; 5 – язвы; 6 – некроз эпидермиса

В печени отмечали следующие микроструктурные изменения: дисконкомплексацию и деформацию гепатоцитов, резобцию жира, особенно у тяжелобольных и истощённых рыб. У части сеголетков выявляли вакуольную дистрофию, очаговый и разлитой некроз паренхимы. В поражённых клетках наблюдали маргинацию хроматина, кариопикноз, кориолизис или кариорексис (рис.44).

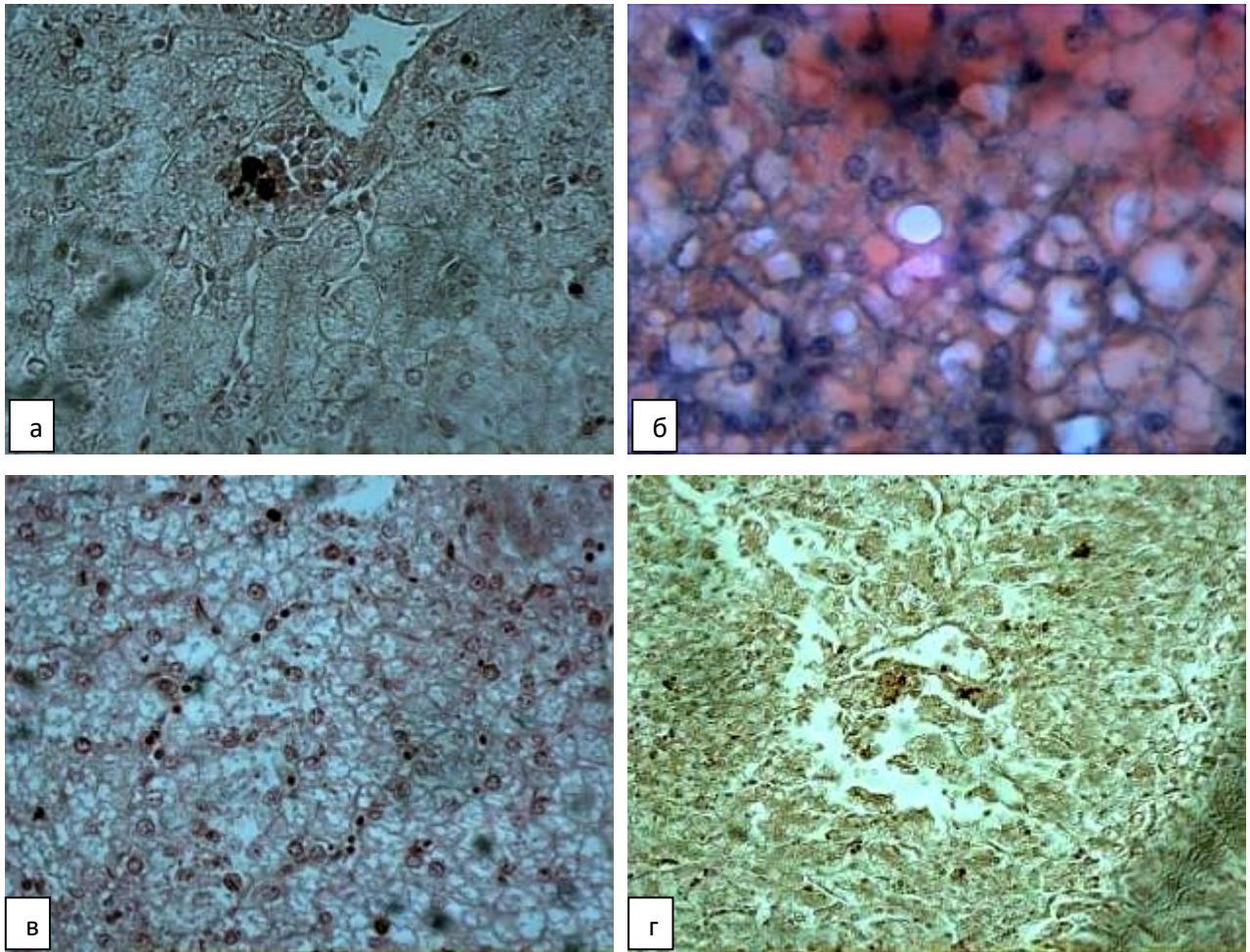


Рис. 44 – Микроструктура печени рыб опытной группы: **а** – деформация, зернистая дистрофия гепатоцитов. Гематоксилин и эозин. Об.40, ок.10; **б** – резорбция жира в гепатоцитах. Судан III. Об.40, ок.10; **в** – диффузный некроз гепатоцитов. Гематоксилин и эозин. Об. 20, ок.10; **г** - крупноочаговый некроз паренхимы. Гематоксилин и эозин. Об.10, ок.10

Частота микроструктурных изменений кожи показана на рисунке 45.



Рис. 45 - Частота микроструктурных изменений печени: 1 – деформация гепатоцитов; 2 – дисконплексація гепатоцитов; 3 – вакуольная дистрофия; 4 – очаговый некроз паренхимы; 5 – диффузный некроз паренхимы

В почках наблюдали гиалиново-капельную дистрофию эпителиальных клеток канальцев, а также некроз отдельных из них. В просвете канальцев и Боуменовых капсул выявляли скопление экссудата, гломерулонефрит и тотальный некроз клубочков (рис. 46).

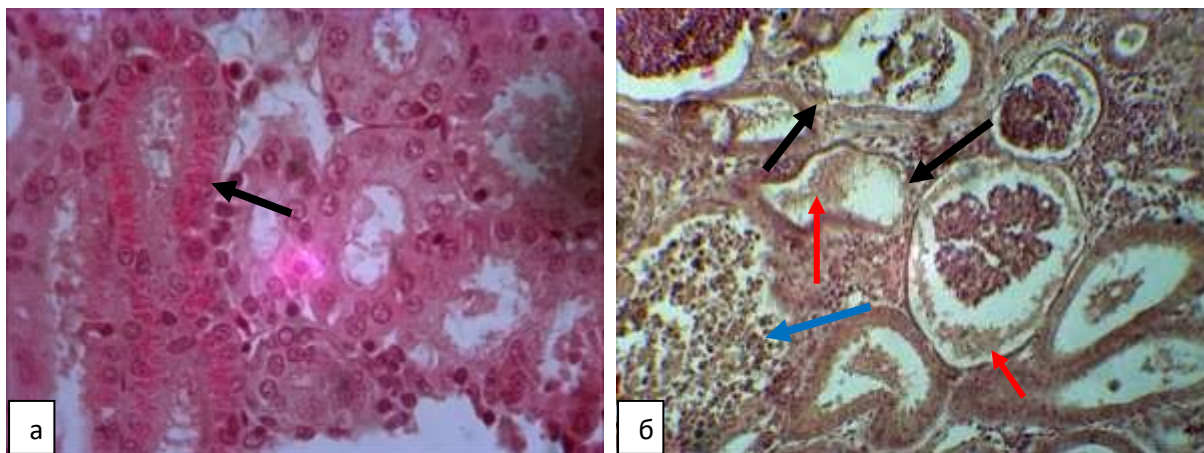


Рис. 46 – Микроструктура почек рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – гиалиново-капельная дистрофия эпителия почечных канальцев. Об. 40, ок.10; **б** – серозный гломерулонефрит (красная стрелка), некроз клубочков, (голубая стрелка), некроз канальцев (чёрные стрелки). Об.10, ок.10

Частота микроструктурных изменений кожи показана на рисунке 47.

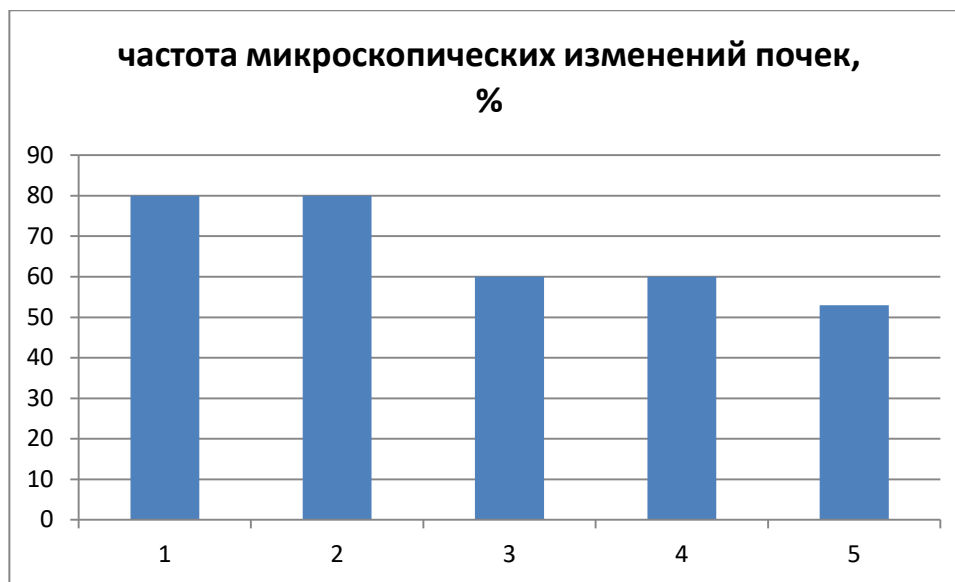


Рис. 47 - Частота микроструктурных изменений почек: 1 – серозный гломерулонефрит; 2 – гиалиново-капельная дистрофия; 3 - кровоизлияния; 4 – некроз эпителиальных клеток канальцев; 5 – некроз почечных клубочков

В средней кишке у больных рыб отмечали катаральное и катарально-геморрагическое воспаление, десквамацию эпителиальных клеток, кровоизлияния и мелкоочаговый некроз цилиндрического эпителия (рис. 48)

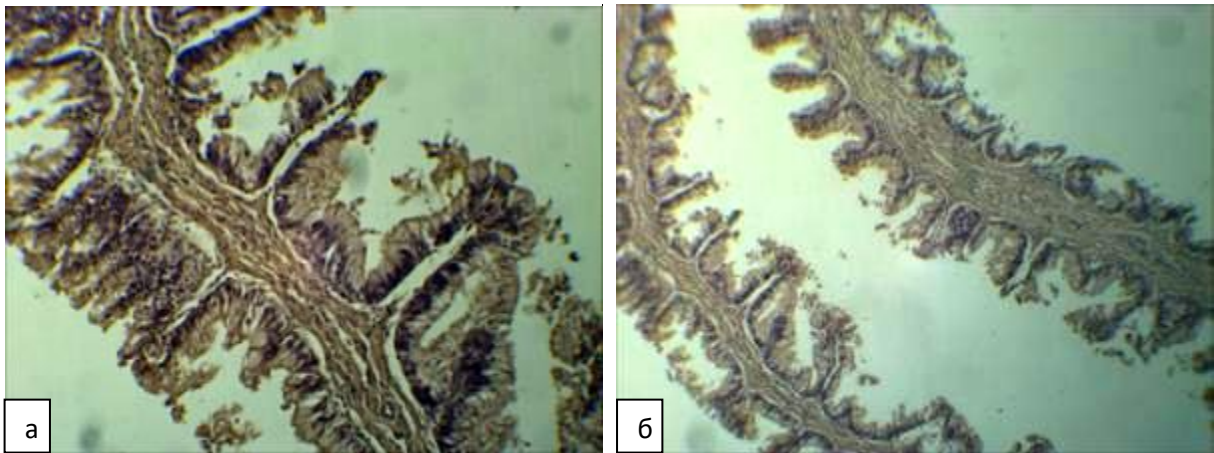


Рис. 48 – Микроструктура средней кишки рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а, б** – катарально-геморрагическое воспаление, кровоизлияния, десквамация и некроз цилиндрического эпителия. а- Об.20, ок.10, б- Об.10, ок.10

Частота микроструктурных изменений средней кишки показана на рисунке 49.



Рис. 49 – Частота микроструктурных изменений средней кишки: 1- десквамативный катар; 2 – разрывы слизистых клеток; 3 – кровоизлияния; 4 – некроз эпителия слизистой оболочки

В **жабрах** части рыб наблюдали отёк, гиперплазию эпителия, слияние и расслоение жаберных пластинок, иногда очаговый некроз жаберных лепестков (рис. 50).

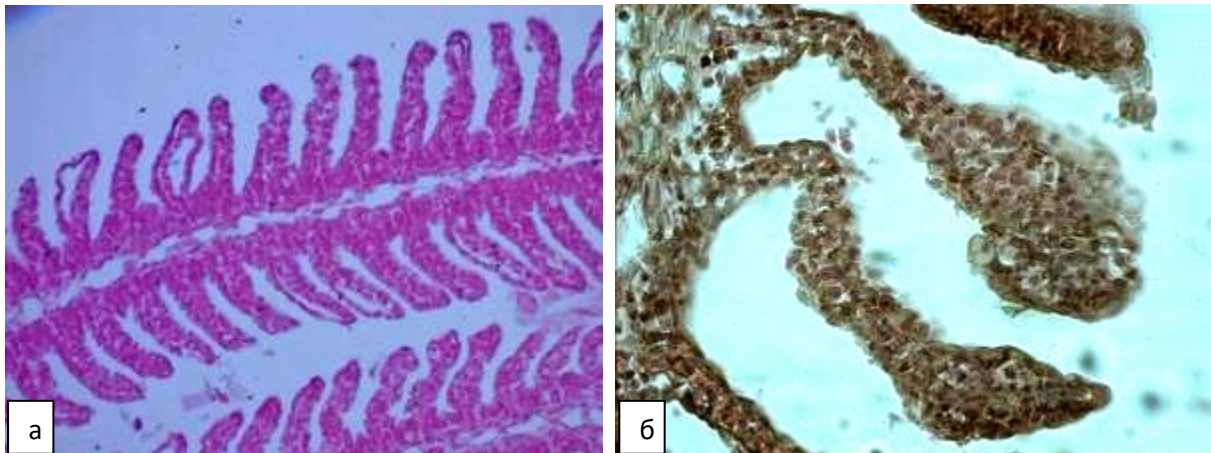


Рис. 50 – Микроструктура жабр рыб опытной группы. Гематоксилин и эозин: **а** – отёк жаберных лепестков, отслоение эпителия жаберных пластинок. Об.20, ок.10; **б** – гиперплазия эпителия. Об.40, ок.10.

Частота микроструктурных изменений жабр показана на рис. 51.



Рис. 51 - 1 – гиперплазия респираторного эпителия; 2 – отёк жаберных лепестков; 3 – расслоение жаберных лепестков; 4 – слияние жаберных пластинок; 5 – некроз жаберных лепестков

Микроструктурные изменения селезёнки и сердца сходны с изменениями в предыдущих опытах.

3.2.4 Результаты исследований при естественном течении герпесвирусной болезни сибирского осетра в рыбоводном хозяйстве.

У осетров, отобранных в осетровом хозяйстве отмечали более выраженные патоморфологические изменения кожи, чем у рыб экспериментально зараженных.

У всех сеголетков выявляли изъязвления в области жучек, обширные язвы на разных частях тела: на плавниках, на боковой части тела (рис. 52, чёрная стрелка). Преимущественно в хвостовом стебле, отмечали полупрозрачные наросты в виде узелков (бляшек) часто образующих сплошные наросты вдоль боковых жучек (рис. 52, голубые стрелки). В области брюшка были отчётливо видны точечные и пятнистые кровоизлияния. В области язв часто наблюдали наросты гриба рода *Saprolegnia* (рис. 52, красная стрелка).



Рис. 52 – Макрокартина фрагментов хвостового стебля больных рыб. Голубые стрелки – бляшки (узелки), чёрная стрелка – язва, красная стрелка – участок хвостового стебля поражённый грибом *Saprolegnia*

При *патологоанатомическом вскрытии* в брюшной полости обнаруживали у части рыб желтоватого иногда кровавистого цвета жидкость, желчный пузырь переполнен желчью, печень бледного цвета. Кишечник у большинства рыб пустой, часто с признаками катарального воспаления в

спиральной кишке. Почки бледные, уменьшены в объеме. Селезёнка с бледными пятнами. Сердце с увеличенной лимфоидной железой (рис. 53).

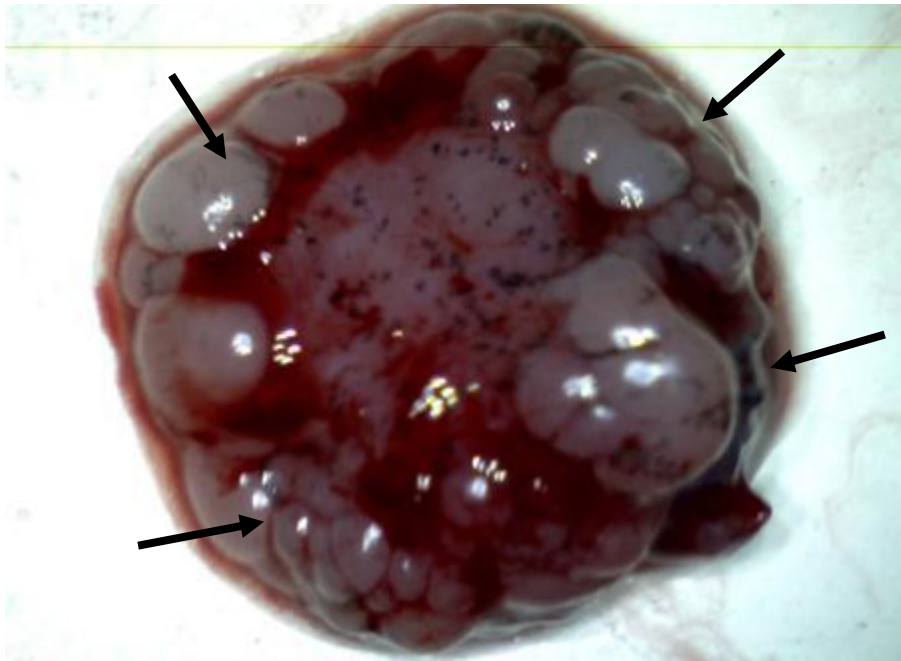


Рис. 53 Макрокартина увеличенной лимфоидной железы в области желудочка сердца (показана стрелками), ув. х6

Патогистологические изменения

У всех естественно больных сеголетков сибирского осетра, также как и у экспериментально заражённых рыб, основные микроструктурные изменения выявлялись в коже, но при этом изменения в ней были более выраженными. У всех взятых для исследования рыб отмечали вакуолизацию эпидермальных клеток, увеличение и разрывы слизистых клеток (рис.54, а), очаги гиперплазии и десквамации клеток (рис.54: б,в). На отдельных участках кожи наблюдали изъязвления, затрагивающие все оболочки кожи и мышцы, а также серозно-геморрагический дерматомиозит (рис. 54 д), выразившийся серозным отёком и миодистрофией (рис.54, е). В хвостовом, анальном, брюшном, анальном и реже в грудных плавниках, наблюдали бахромчатость краёв, некроз и распад эпидермиса (рис.54, г). В каналах боковой линии отмечали десквамацию и некроз

эпителиальных клеток, приводящую к сужению просвета канала. Часть жучек были оголены в результате слущивания эпидермиса (рис.54, в).

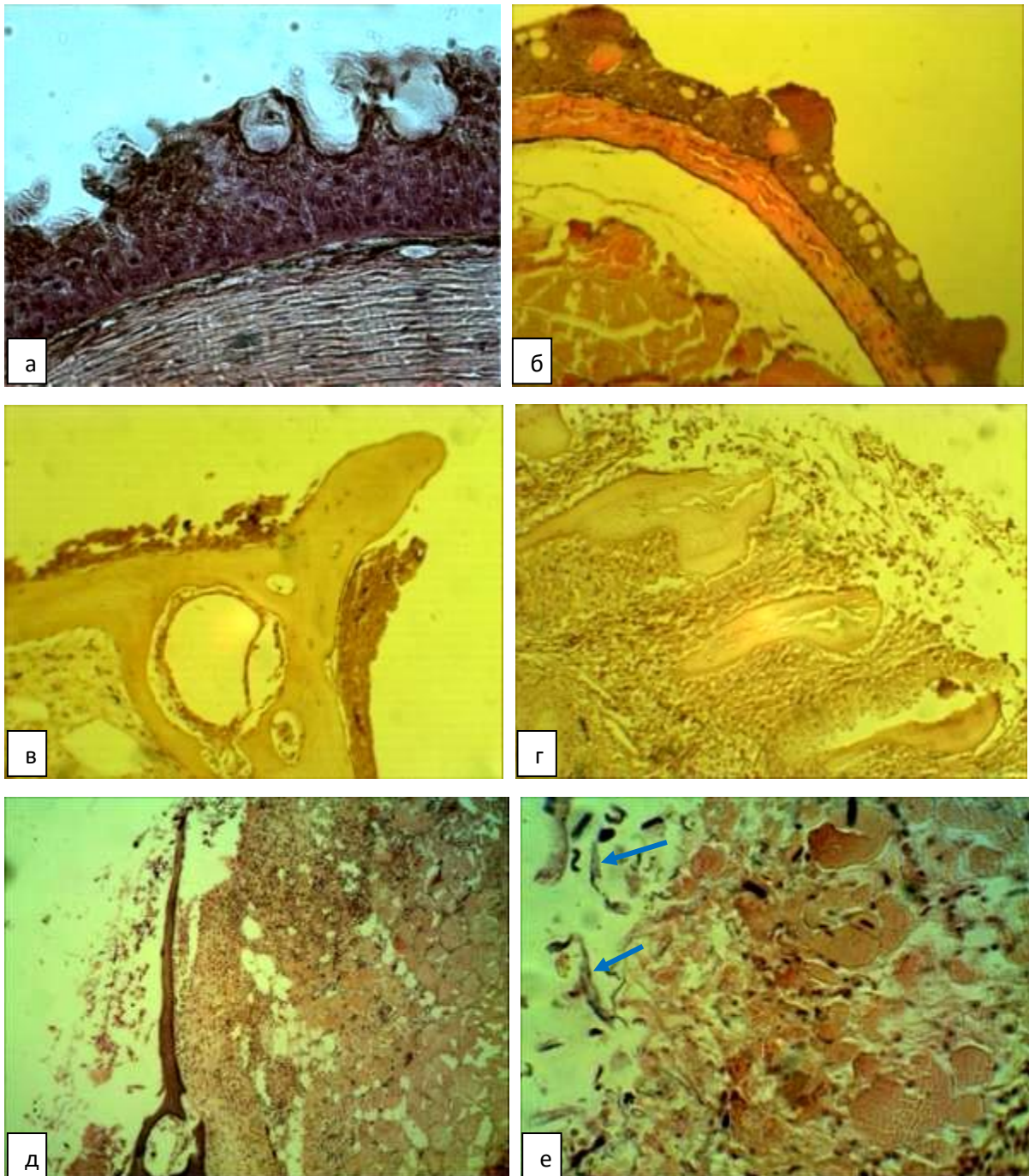


Рис. 54 – Микроструктура кожи больных рыб. Гематоксилин и эозин: **а** – десквамация эпидермиса, разрывы слизистых клеток. Об. 40, ок.10; **б** – гиперплазия эпидермиса. Об. 10, ок.10; **в** – деформация жучки, десквамация, некроз эпидермиса и эпителия боковой линии. Об.10, ок.10; **г** – некроз эпидермиса. Об. 10, ок.10; **д** – серозно-геморрагический дерматомиозит, десквамация эпидермиса. Об. 10, ок.10; **е** – серозный отёк, миодистрофия, скопление грибка *Saprolegnia* и миксобактерий, стрелками показаны гифы гриба. Об.40, ок.10

Частота микроструктурных изменений кожи показана на рисунке 55.



Рис. 55 – Частота микроструктурных изменений кожи: 1 – гиперплазия эпидермальных клеток; 2 – гипертрофия и разрывы оболочек слизистых клеток эпидермиса; 3 – десквамация эпидермиса; 4 – бляшки (узелки) гиперплазированного эпидермиса; 5 – язвы; 6 – некроз эпидермиса

В печени отмечали деформацию и дисконкомплексацию гепатоцитов, вакуольную дистрофию, очаговый и диффузный некроз паренхимы (рис 56).

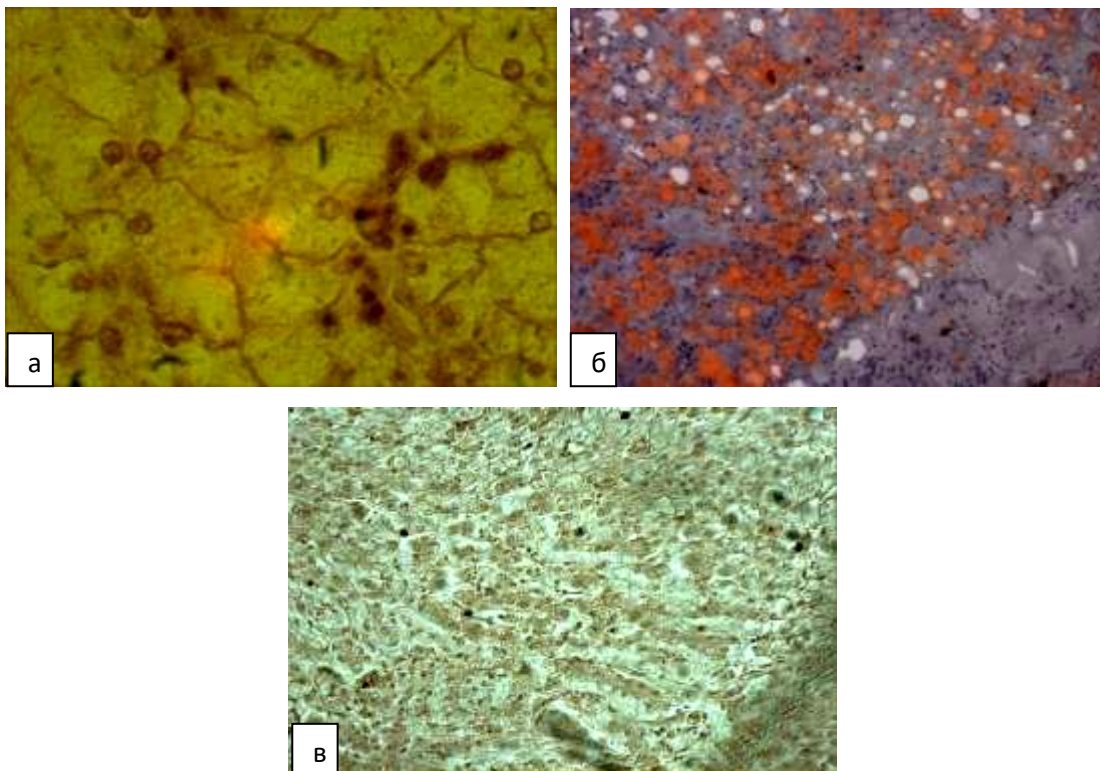


Рис. 56 – Микроструктура печени больных рыб: **а** – деформация и дисконкомплексация гепатоцитов. Гематоксилин и эозин. Об. 20, ок.10; **б** – вакуольная дистрофия. Судан III. Об. 10, ок.10; **в** – очаговый некроз паренхимы. Гематоксилин и эозин. Об. 10, ок.10

Частота микроструктурных изменений печени показана на рисунке 57.



Рис. 57 - Частота микроструктурных изменений печени: 1 – деформация гепатоцитов; 2 – дисконплексація гепатоцитов; 3 – вакуольная дистрофия; 4 – очаговый некроз паренхимы; 5 – диффузный некроз паренхимы

В почках отмечали очаговые кровоизлияния, гиалиново-капельную дистрофию эпителиальных клеток мочевых канальцев, серозный гломерулонефрит, некроз канальцев и клубочков (рис. 58).

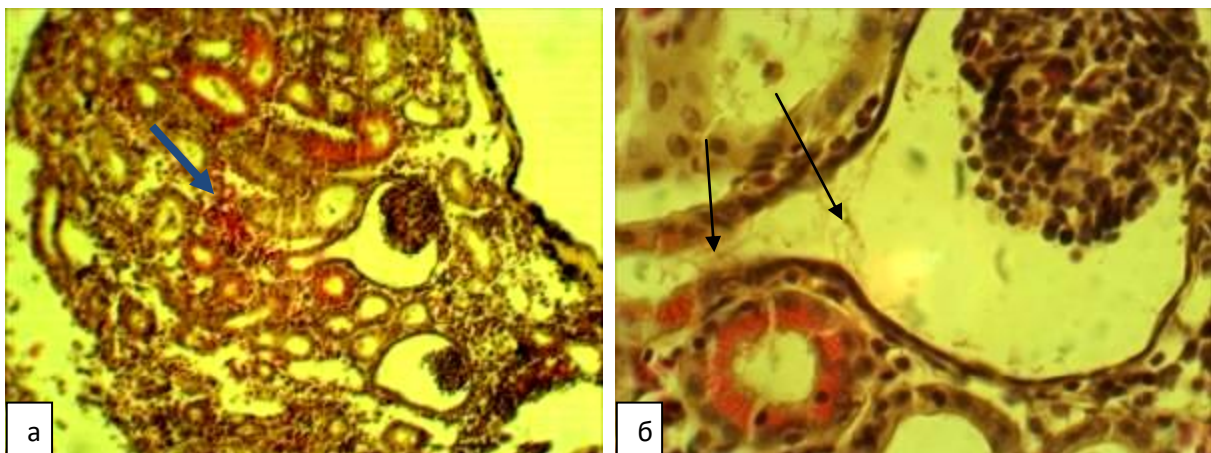


Рис. 58 – Микроструктура почек больных рыб, кровоизлияние (голубая стрелка), гиалиново – капельная дистрофия почечных канальцев, серозный гломерулонефрит (чёрные стрелки). Гематоксилин и эозин, а – Об.10, ок.10, б – Об.40, ок.10

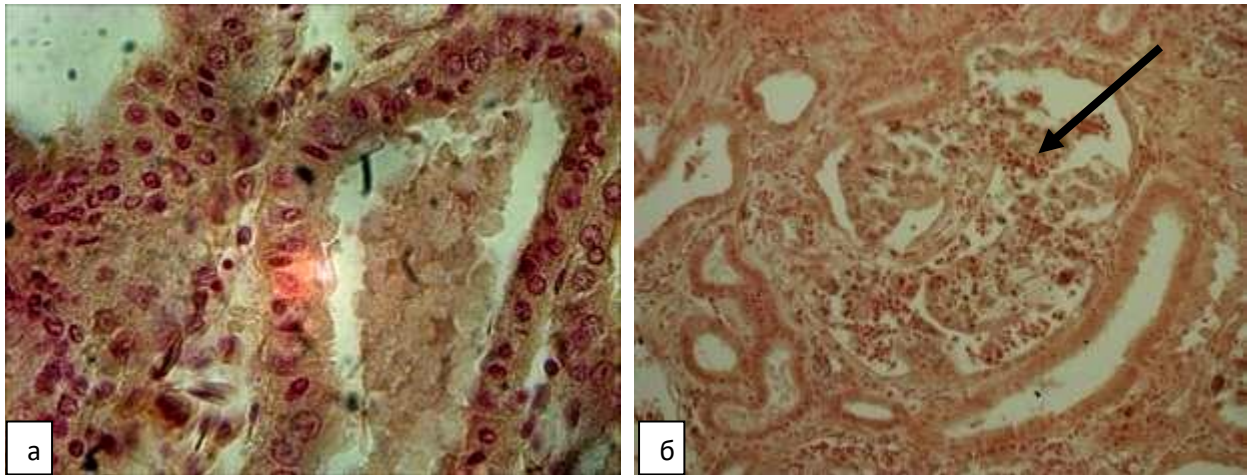


Рис. 59 – Микроструктура почек больных рыб. Гематоксилин и эозин. Серозный гломерулонефрит, а – экссудат в канальце. Об. 40, ок.10; б – некроз клубочка (чёрная стрелка). Об. 20, ок.10

Частота микроструктурных изменений почек показана на рисунке 59.



Рис. 60 - Частота микроструктурных изменений почек: 1 –серозный гломерулонефрит; 2 – гиалиново-капельная дистрофия; 3 - кровоизлияния; 4 – некроз эпителиальных клеток канальцев; 5 – некроз почечных клубочков

В **средней кишке** у больных рыб отмечали катаральное и катарально-геморрагическое воспаление, десквамацию эпителиальных клеток, кровоизлияния и мелкоочаговый некроз эпителия (рис. 61)

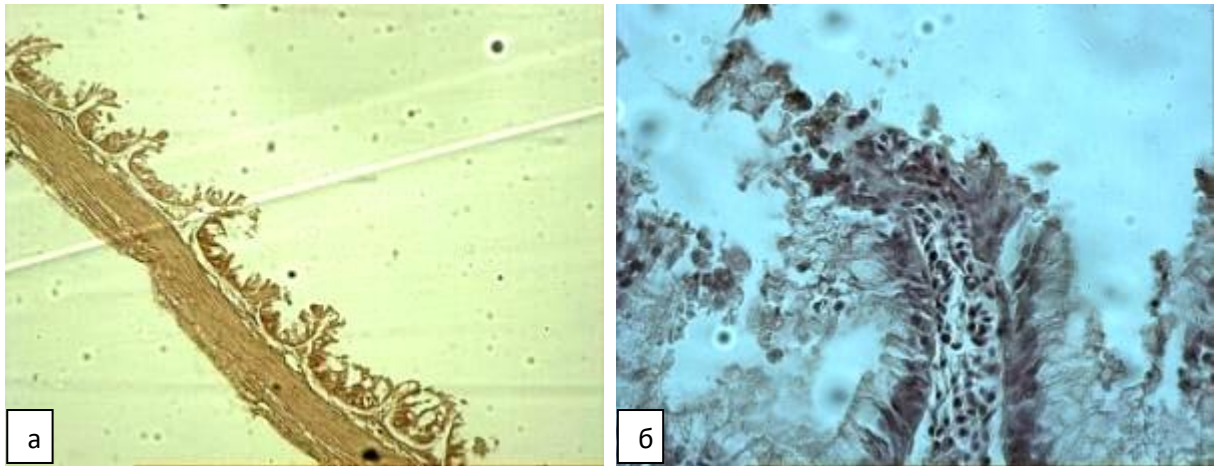


Рис. 61 – Микроструктура средней кишки больных рыб. Гематоксилин и эозин: **а** – десквамация. Об.10, ок.10; **б** – некроз эпителиальных клеток, Об. 40, ок.10

Частота микроструктурных изменений средней кишки показана на рисунке 62.



Рис. 62 – Частота микроструктурных изменений спиральной кишки: 1- десквамативный катар; 2 – разрывы слизистых клеток; 3 – кровоизлияния; 4 – некроз эпителия слизистой оболочки

В жабрах больных рыб выявляли: слияние, расслоение жаберных пластинок, гиперплазию и мелкоочаговый некроз эпителиальных клеток.

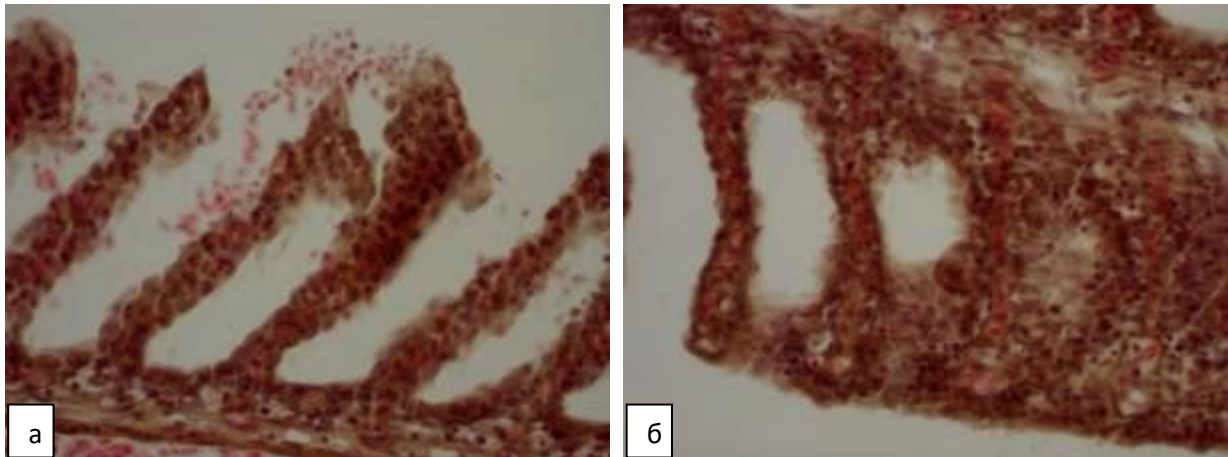


Рис. 63 – Микроструктура жабр больных рыб. Гематоксилин и эозин. Об 40, ок.10; а – гиперплазия эпителия; б – гиперплазия и слияние жаберных пластинок

Частота микроструктурных изменений жабр показана на рисунке 64.



Рис. 64 - 1 – гиперплазия эпителия; 2 – отёк жаберных лепестков; 3 – расслоение жаберных лепестков; 4 – слияние жаберных пластинок; 5 – некроз жаберных лепестков

Микроструктурные изменения селезёнки и сердца были сходны с изменениями у подопытных рыб.

Обобщённые результаты частоты микроструктурных изменений кожи, жабр, печени, почек, средней кишки во всех опытах и у естественно больных рыб показаны на рис. 65.

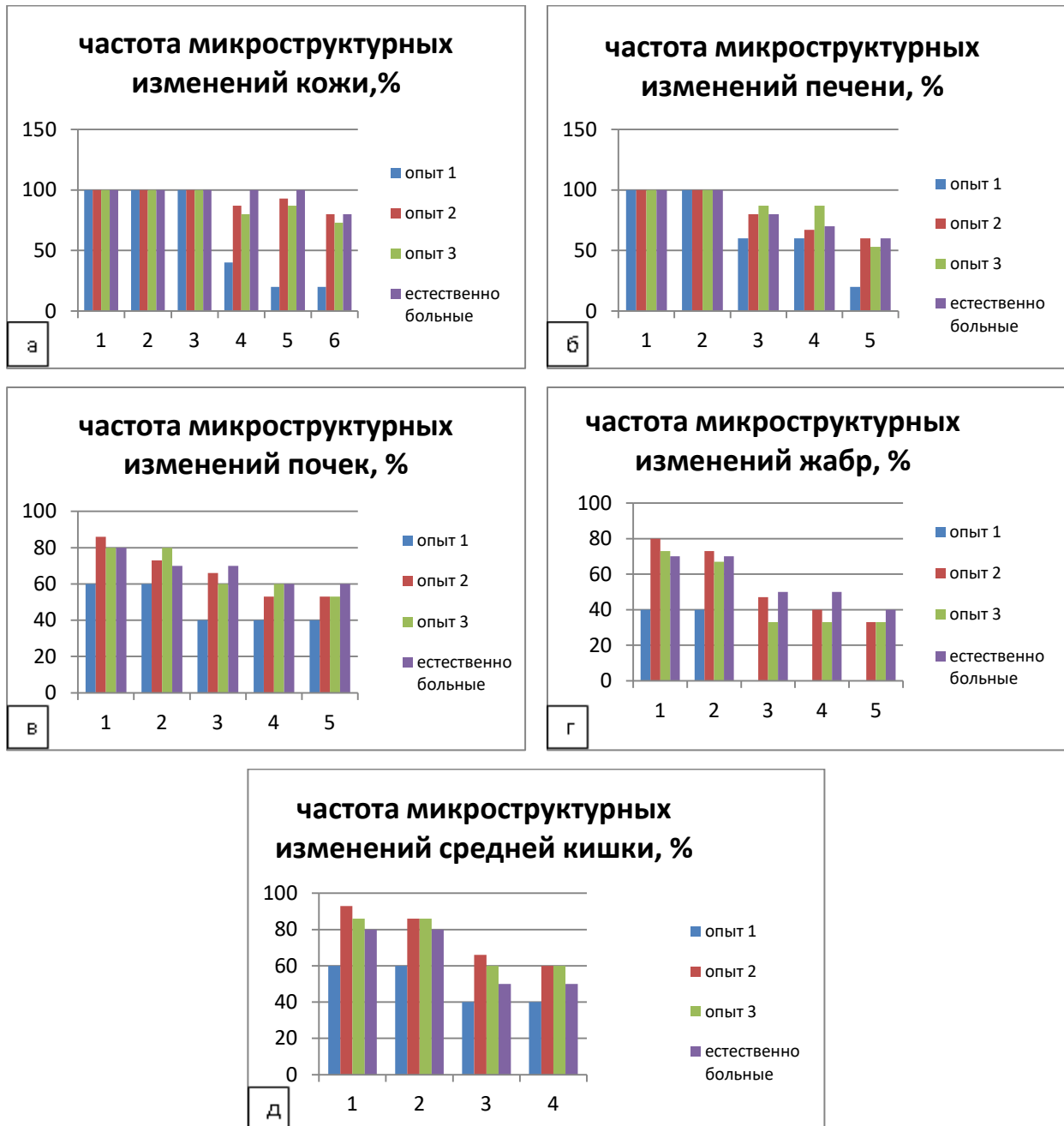


Рис. 65 – Частота микроструктурных изменений кожи, жабр, печени, почек, средней кишки, в 1, 2, 3 опытах и у естественно больных рыб; **а** – кожа: 1 – гиперплазия эпидермальных клеток, 2 – гипертрофия и разрывы оболочек слизистых клеток эпидермиса, 3 – десквамация эпидермиса, 4 – бляшки (узелки) гиперплазированного эпидермиса, 5 – язвы, 6 – некроз эпидермиса, **б** – печень: 1 – деформация гепатоцитов, 2 – дисконкомплексация гепатоцитов, 3 – вакуольная дистрофия, 4 – очаговый некроз паренхимы, 5 – диффузный некроз паренхимы, **в** – почки: 1 –серозный гломерулонефрит, 2 – гиалиново-капельная дистрофия, 3 – кровоизлияния, 4 – некроз эпителиальных клеток канальцев, 5 – некроз почечных клубочков, **г** – жабры: 1 – гиперплазия эпителия, 2 – отёк жаберных лепестков, 3 – расслоение жаберных лепестков, 4 – слияние жаберных пластинок, 5 – некроз жаберных лепестков, **д** – средняя кишка: 1- десквамативный катар, 2 – разрывы слизистых клеток, 3 – кровоизлияния, 4 – некроз эпителия слизистой оболочки

3.3 Обсуждение результатов

По данным литературы [87, 196] герпесвирус впервые выделен у белого осетра в США а позднее в Европе. В 2006 г. герпесвирусная болезнь зарегистрирована в России [18], она наносит ущерб воспроизводству осетровых рыб в результате массовой гибели молоди и имеет тенденцию к широкому распространению в связи с интенсивным развитием осетроводства. При этом от сибирского осетра выделены и изучены два типа герпесвируса (SbSHV), доказана их этиологическая роль. Однако, характер их патогенного действия и клинико-морфологического проявления инфекции изучен недостаточно, что затрудняет решение вопроса о её нозологической принадлежности. Поэтому предпринятые нами исследования в этом направлении вполне оправданы.

В результате проведённых опытов, а также при исследовании спонтанно больных рыб нами подтверждены данные литературы о высокой патогенности герпесвируса для молоди сибирского осетра и его гибридов. При этом установлено, что к нему особенно чувствительны сеголетки сибирского осетра и более устойчивы его гибриды с русским осетром. Некоторые различия наблюдались также при заражении сеголетков штаммом SK 1/0406 и изолятом SIz6/0311 отнесённых к разным типам SbSHV. Эти различия проявлялись в характере течения герпесвирусной инфекции. Наиболее тяжело инфекция протекала у сибирского осетра: инкубационный период при ней составлял до 10 суток, продолжительность болезни – 22 суток, гибель рыб – 100%; у гибрида русского и сибирского осетров инкубационный период составил 21 сутки, продолжительность инфекционного процесса – 42 суток, заболеваемость – 35%, смертность – 25%. Патоморфологические изменения у гибрида также менее выражены, чем у сибирского осетра. Сходные результаты, описаны при заражении других видов осетровых рыб. Так, по данным Прокаевой И.Б., (2012) инкубационный период при герпесвирусной инфекции среди сеголетков стерляди составил 11 суток, смертность 40%, среди молоди гибрида стерлядь x белуга x стерлядь (СБС) инкубационный период составил 23 дня, смертность 47%.

Клинические признаки и патологоанатомические изменения у них также были менее выражены, чем у сибирского осетра.

Особенностью патогенеза большинства герпесвирусных болезней рыб является тропизм к эпителиальным клеткам и прежде всего к покровному эпителию кожи [18]. Чаще они проявляются острой воспалительной реакцией и гиперпластическими процессами. Герпесвирусы рыб по патогенности можно разделить на высоковирулентные и низковирулентные.

Высоковирулентные герпесвирусы вызывают остро протекающие инфекции, сопровождающиеся высокой смертностью молоди, часто достигающей 100%. При этом они проявляются тяжёлыми дистрофическими и некротическими изменениями внутренних органов. К ним относятся герпесвирусные болезни канального сама [159], черного сома кошки [108], золотой рыбки [29, 110, 135], при которых специфических изменений кожи не отмечено. В то же время при герпесвирусных болезнях лососёвых 2 и 3 типа, карповых 1 типа [136, 171, 208], карпа кои, белого осетра 1 типа, белого осетра 2 типа в коже выявлены специфические патизменения: гиперплазия эпидермиса, некротические и язвенные поражения кожи [21, 119, 125, 165, 197].

Слабовирулентные герпесвирусы вызывают хронические инфекции без специфических патизменений (герпесвирусы лососёвых 1 типа [94]) или с поражениями кожных покровов, проявляющимися гиперплазией эпидермиса или в образовании папиллом: герпесвирус угря 1 типа [154], герпесвирус лососёвых 4 типа [28, 199], герпесвирус европейской корюшки [114], герпесвирус обыкновенной щуки [204], герпесвирус обыкновенного сома [180] и некоторые другие вирусы [142, 182, 184].

Результаты наших исследований подтверждают данные других авторов о том, что герпесвирус сибирского осетра следует отнести к группе высоковирулентных, с выраженным дермотропным действием [67]. Так у сеголетков сибирского осетра, экспериментально заражённых вирусом SbSHV, инфекционный процесс носил чаще острый характер, сопровождался массовой гибелью рыб и тяжёлыми патоморфологическими изменениями кожи и

внутренних органов. При этом у большинства рыб обнаруживали на кожном покрове тела и плавников гиперемию (инъекцию сосудов) и точечные кровоизлияния, изъязвления жучек и микроочаговые некрозы, а также гиперпластические очаги на коже в виде бляшек. Нередко процесс осложнялся разрастом грибка сапролегния.

На стадии максимального развития инфекции отмечали ярко выраженные патанатомические изменения печени. Она имела бледную, иногда светло-серую окраску, у части рыб была рыхлой и легко разрушалась при разрезе. При микроскопическом исследовании наблюдали белковую или гидропическую дистрофию гепатоцитов, проявляющуюся вакуолизацией цитоплазмы, деформацией клеток и деструкцией паренхимы. У истощённых рыб выявляли резорбцию жира. У части рыб отмечали очаговый некроз гепатоцитов, проявляющийся маргинацией хроматина, кариопикнозом, кариорексисом, а также полным распадом клеток. Подобные изменения печени описаны при герпесвирусных болезнях других видов рыб. В частности бледность и некроз гепатоцитов отмечены у лососёвых, поражённых герпесвирусом 1, 2, 3 и 4 типов, сомовых 1 и 2 типов, карповых 1 и 3 типов [93, 183, 202].

Патология почек разной степени выраженности наблюдалась у всех больных сеголетков сибирского осетра и его гибрида с русским осетром. При этом патанатомические изменения были заметны не у всех рыб. У части рыб наблюдали побледнение, а у истощённых – уменьшение размеров почек. При микроскопическом исследовании наблюдали гиперплазию гемопоэтической ткани, кровоизлияния, гиалиново-капельную дистрофию эпителия почечных канальцев. Затем развивался гломерулонефрит, выражавшийся скоплением зернистых масс в просвете почечных канальцев и Боуменовой капсуле клубочков. При наиболее тяжёлой форме инфекции отмечали некроз мочевых канальцев и клубочков и распад паренхимы почек.

Сходные патоморфологические изменения почек отмечены также при оспе карпов, герпесвирусной болезни карпов кои, лососёвых и сомовых рыб [20, 81, 95, 99, 162]. Бледность окраска почек некроз паренхимы отмечены при оспе карпов, у

золотой рыбки - бледная окраска некроз гемопоэтической ткани, у карпов кои – дистрофические изменения в почечных канальцах. При герпесвирусных болезнях лососёвых 1 и 2 типов – бледная окраска кровоизлияния, некроз паренхимы. У сомовых, заражённых IcHV-1 и IcHV -2 наблюдали очаги кровоизлияний, некроза почечных канальцев и гемопоэтической ткани.

В органах пищеварительной системы наиболее выраженные патоморфологические изменения выявлены в слизистой оболочке спирального отдела средней кишки. В ней отмечены признаки катарального или катарально – геморрагического воспаления, выразившегося покраснением и скоплением слизи, у многих рыб с примесью крови. При микроскопическом исследовании в спиральной кишке наблюдали вакуолизацию, некроз и десквамацию покровного эпителия и слизистых клеток, кровоизлияния в подслизистой оболочке – признаки деструкции складок.

Признаки, сходные с описанными выше отмечены при герпесвирусных болезнях других видов рыб. Геморрагии, некроз слизистого и подслизистого слоя кишечника выявляли при герпесвирусных болезнях лососёвых 1 и 2 типа, сомовых 1 типа [99, 156, 202].

В жабрах у отдельных сеголетков сибирского осетра выявляли гемморрагичные и анемичные очаги. При микроскопическом исследовании более часто обнаруживали гиперплазию респираторного эпителия, у отдельных экземпляров кровоизлияния, расслоение или отёк жаберных пластинок, и реже очаговый некроз респираторного эпителия.

По данным литературы у других видов рыб степень поражения жабр при герпесвирусных болезнях была разной, но наиболее часто встречаются: гиперплазия, гипертрофия и некроз жаберного эпителия [20, 43, 100, 116, 159, 200].

Патоморфологические изменения селезёнки и сердца у инфицированных SbSHV сеголетков сибирского осетра и его гибрида с русским осетром были менее выражены, чем в других органах. В срезах селезёнки наблюдали увеличение площади белой пульпы за счёт гиперплазии лимфоидной ткани. В

сердце наиболее выражена гиперплазия лимфоидной железы. В то же время, при герпесвирусных болезнях карповых и сомовых многими авторами [116,162] описаны выраженные патологические изменения селезёнки – в основном геморрагии, некроз пульпы. В сердце отмечена дряблость сердечной мышцы при герпесвирусных болезнях карповых, у лососёвых рыб – кижуча и радужной форели.

При исследовании естественно больных сеголетков сибирского осетра патоморфологические изменения кожи были более разнообразны, чем у экспериментально заражённых рыб, поскольку герпесвирусная инфекция была осложнена флексибактериозом и сапролегниозом. Это выражалась развитием дерматомиозита, который проявлялся застойной гиперемией, диапидезными кровоизлияниями, отёком, клеточной инфильтрацией подкожной жировой клетчатки и межмышечной соединительной ткани, диссоциацией мышечных пучков и очаговым некрозом кожи. Патологоанатомические и патогистологические изменения внутренних органов при естественном течении болезни и при заражении герпесвирусом были сходны.

Результаты проведённых нами исследований позволили раскрыть основные стороны патогенеза данной болезни. Они показали, что герпесвирусная инфекция сибирского осетра вызывает существенные патоморфологические изменения в общем (кожном) покрове и внутренних органах, в тяжёлых случаях приобретает генерализованный характер. Герпесвирус преимущественно поражает общий (кожный) покров, в частности эпидермис, вызывая в нём значительные повреждения и тем самым нарушает осморегуляторную и барьерную функции кожи. В то же время он диссеминирует во внутренние органы и вызывает существенные дистрофические и некротические изменения в печени, почках, спиральной кишке, жабрах о чём свидетельствует выделение из этих органов данного герпесвируса в высоких титрах. Нарушение барьерной функции кожи в естественных условиях часто приводит к осложнению инфекции флексибактериозом и сапролегниозом и повышает смертность рыб.

Полученные нами результаты, в сочетании с данными литературы позволяют рассматривать герпесвирусную инфекцию сибирского осетра как самостоятельную нозологическую единицу – «герпесвирусную болезнь сибирского осетра» и могут быть использованы для её клинической и патоморфологической диагностики. К наиболее характерным признакам следует отнести десквамативный дерматит, гиперплазию и некроз эпидермиса, белковую дистрофию и фокальный некроз паренхимы печени, гиалиново-капельную дистрофию эпителия мочевых канальцев, катаральный энтерит спиральной кишки, гиперплазию гемопоэтической ткани лимфоидной железы сердца. При этом её следует дифференцировать от флексибактериоза и сапролегниоза по характерным клиническим признакам и данным микроскопических исследований патматериалов из поражённых участков кожи.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Герпесвирусная инфекция является опасным заболеванием, наносящим значительный ущерб при искусственном воспроизводстве и выращивании осетровых рыб. В ряде осетровых хозяйств России от сибирского осетра выделены два типа герпесвируса (SbSHV), доказана его этиологическая роль и изучены основные свойства. Однако, характер их патогенного действия и клинико-морфологические проявления инфекции изучены недостаточно, что затрудняет решение вопроса о её нозологической принадлежности, расшифровке патогенеза и диагностики болезни, поэтому исследование патоморфологических изменений и патогенеза SbSHVD являются актуальными.

На основании исследований сеголеток осетровых рыб нами сделаны следующие выводы:

1. Герпесвирусная инфекция вызывает существенные патологоанатомические и микроструктурные изменения в общем (кожном) покрове и внутренних органах молоди осетров, то есть носит системный характер.

2. Герпесвирусная инфекция характеризуется стойким поражением кожи – очаговой гиперплазией, некрозом и десквамацией эпидермиса и реже – серозным дерматомиозитом, в жабрах – отёком жаберных лепестков, гиперплазией и некрозом эпителия, во внутренних органах – развитием дистрофических и некротических изменений: в печени – гидropической дистрофией, очаговым и диффузным некрозом гепатоцитов; в почках – серозным гломерулонефритом, гиалиново – капельной дистрофией и некрозом эпителия почечных канальцев и клубочков; в спиральной кишке – катаральным воспалением, в лимфоидной железе сердца – гиперплазией гемопоэтической ткани, в селезёнке – инфильтрацией пульпы лимфоцитами.

3. Патоморфологические изменения у естественно больных герпесвирусной болезнью и экспериментально заражённых сеголетков сибирского осетра сходны. Однако, у естественно больных рыб поражения кожи более выражены и обширны вследствие осложнения болезни вторичными инфекциями, вызванными бактериями рода *Flexibacter* и грибами рода *Saprolegnia*. Это

проявляется развитием у них дерматомиозита и некроза, захватывающего глубокие слои дермы и скелетной мускулатуры.

4. При экспериментальном заражении рыб герпесвирусом (SbSHV) установлено, что к нему более чувствительны сеголетки сибирского осетра, чем его гибрида с русским осетром. Это проявлялось более тяжелым течением и морфологическим проявлением инфекции: при ней инкубационный период составлял 10 сут., продолжительность болезни – 22 сут., смертность – 100%; а среди гибридов – инкубационный период - 21 сут., длительность болезни - 42 сут., смертность - 25%.

5. При заражении сеголетков сибирского осетра штаммом (SK 1/0406) и изолятом (SIz6/0311) течение и проявление инфекционного процесса сходны, наиболее выраженные патоморфологические изменения наблюдались в коже, печени и почках.

6. В основе патоморфогенеза герпесвирусной инфекции осетровых рыб лежит дермотропный эффект, проявляющийся нарушением барьерной функции кожи, что приводит к диссеминации вируса во внутренние органы, появлению в них патологических изменений, приводящих к смертельному исходу инфекции.

7. Полученные нами результаты в сочетании с данными литературы по этиологии инфекции позволяют рассматривать её как самостоятельную нозологическую единицу – «герпесвирусную болезнь сибирского осетра» и внести в национальный перечень опасных болезней рыб.

8. Диагностику болезни следует осуществлять комплексно на основании клинико – морфологических признаков и результатов вирусологических исследований. Болезнь следует дифференцировать от флексибактериоза и сапролегниоза по характерным для них клинико – морфологическим признакам и данным микроскопических исследований патматериалов из поражённых участков кожи.

Рекомендации по использованию научных выводов

1. Материалы научных исследований и выводы могут служить основой для постановки предварительного диагноза на герпесвирусную болезнь осетровых рыб.

2. Результаты исследований будут рекомендованы для включения в нормативные документы по диагностике и профилактике герпесвирусной болезни осетровых рыб.

Практическое использование полученных результатов

Материалы исследований используются в учебном процессе ФГБОУ МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина при проведении занятий по курсу «Болезни рыб» и «Вирусология» на ветеринарном, ветеринарно-биологическом факультетах и институте повышения квалификации специалистов АПК РФ.

5 СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГНУ ВНИИВВиМ – Государственное научное учреждение Всероссийский научно – исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии

ЖКТ – желудочно – кишечный тракт

ИФА – иммуноферментный анализ

нм – нанометр

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РН – реакция нейтрализации

ТЦД₅₀ – тканевая цитопатическая доза, поражающая 50% клеточного монослоя

ФГБУН ИБВВ им. И.Д. Папанина – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина

ЦНС – центральная нервная система

ЦПД – цитопатическое действие

ЦПЭ – цитопатический эффект

AcHV – acipenserid herpesvirus, герпесвирус осетровых

AcHVD – герпесвирусная болезнь белого осетра

AngHV – anguillid herpesvirus, герпесвирус угревых

AngHVD – герпесвирусная болезнь угря

ASPV – atlantic salmon papillomatosis virus, вирус папилломатоза атлантического лосося

CyHV – cyprinid herpesvirus, герпесвирус карповых

CyHVD – герпесвирусная болезнь карповых

IcHV – ictalurid herpesvirus, герпесвирус сомовых

IcHVD – герпесвирусная болезнь сомовых

FISH – флуоресцентная *in situ* гибридизация

SalHV – salmonid herpesvirus, герпесвирус лососёвых

SalHVD – герпесвирусная болезнь лососёвых

SbSHV – siberian sturgeon herpesvirus, герпесвирус сибирского осетра

SbSHVD – герпесвирусная болезнь сибирского осетра

6 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атлас нарушений в гаметогенезе и строении молоди осетровых/ Н.В. Акимова [и др] // М.: Изд-во ВНИРО, 2004. - 120 с.
2. Белоусова Р.В. Ветеринарная вирусология: учебник / Р.В. Белоусова, Э.А. Преображенская, И.В. Третьякова - М.: Издательство «КолосС», 2007. - 423 с.
3. Белоусова Р.В. Практикум по ветеринарной вирусологии: учебное пособие / Р.В. Белоусова, Н.И. Троценко, Э.А. Преображенская. - М.: Издательство «КолосС», 2006. - 248 с.
4. Гистология для ихтиологов / Е.В. Микодина [и др.] - М.: Издательство ВНИРО, 2009. - 112 с.
5. Гуртовой Н.Н. Практическая зоотомия позвоночных: учебное пособие / Н.Н. Гуртовой, Б.С. Матвеев, Ф.Я. Держинский. – М.: Высшая школа, 1976. – 352 с.
6. Казарникова А.В. Заболевания осетровых рыб в замкнутой системе водоснабжения / А.В. Казарникова // Ветеринария. – 2007. - № 3. - С. 25–29.
7. Казарникова А.В., Основные заболевания осетровых рыб в аквакультуре / А.В. Казарникова, Е.В. Шестаковская. - М.: Издательство ВНИРО, 2005. – 104 с.
8. Калабекова Ф.С. Выявление генома герпесвируса сибирского осетра методом ПЦР в режиме реального времени и ее применение при обследовании рыбоводных хозяйств / Ф.С. Калабекова, И.М. Калабеков, И.С. Щелкунов // Научный журнал КубГАУ. – 2012. - №82(08). - Стр.473 – 483.
9. Лакин, Г.Ф. Биометрия: учебное пособие / Г.Ф. Лакин. - М.: Высшая школа, 1990. - 351 с.
10. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники: учебное пособие / Г.А. Меркулов - Л.: Издательство медицинской литературы «медгиз», 1961. – 340 с.
11. Методические рекомендации по диагностике герпесвирусной болезни сибирского осетра / РАСХН, ГНУ ВНИИВВиМ. – М. – 2009. – 10 с.

12. Методические указания по идентификации вирусов и лабораторной диагностике вирусных болезней рыб / Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. – Ч.1. – М.: Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998. – С. 60 – 113.
13. Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Микряков Д.В. 2009. Реакция лейкоцитов стерляди *Acipenser ruthenus* на гормониндуцируемый стресс // Вопросы ихтиологии. Т. 49. №4. С. 554–557.
14. Миронов А.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине: Методическое руководство / А.А. Миронов, Комиссарчук Я.Ю., Миронов В.А. – СПб.: Издательство «Наука», 1994. – 400 с.
15. Наумова А.М., Щелкунов И.С., Карасёва Т.А., Наумова А.Ю. 2012. Инфекционные болезни рыб и меры борьбы с ними. М.: Издательство РГАУ-МСХА. 151 с.
16. Прокаева И.Б. Особенности гуморального иммунного ответа осетровых рыб на возбудитель герпесвирусной болезни / И.Б. Прокаева // Научный журнал КубГАУ. – 2012. - №81(07). – С. 839-848.
17. Силкина Н.И. Влияние оспенной инфекции на морфо- и иммунофизиологическое состояние карпа *cyprinus carpio L.*/ Н.И. Силкина, В.Р. Микряков, А.С. Соколова // Вестник АПК Верхневолжья. – 2014. - № 3 (27). – С. 49-53.
18. Щелкунов А.И., Щелкунов И.С. 2010. Герпесвирусная болезнь сибирского осетра// Ветеринария. № 1. С. 18–21.
19. Щелкунов И.С., Щелкунова Т.И., Щелкунов А.И. и др. Герпесвирусная болезнь осетровых рыб в России/ РВЖ. СХЖ. 2007. №1, С. 10-12.
20. A case of herpesvirus infection of fresh water-reared coho salmon *Oncorhynchus kisutch* in Japan / M. Horiuchi [et al.] // Aquaculture Science. – 1989. - Vol.36(4). - P.297-305.
21. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp / R.P. Hedrick [et al.] // J. Aquat. Anim. Health. – 2000. - Vol. 12(1). - P. 44–57.

22. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi *Cyprinus carpio* / R.P. Hedrick [et al.] // Fish Health Newsletter, Fish Health Section, American Fisheries Society. – 1999. – Vol.27. - P. 14.
23. A herpesvirus isolated from carp papilloma in Japan / T. Sano [et al.] // Fish Shell. Pathol. – 1985. - Vol.32. - P. 307–311.
24. A monoclonal antibody cross-reactive with three salmonid herpesviruses / Y. Hayashi [et al.] // J. Fish Dis. - 1993. - Vol. 16(5). - P. 479-486.
25. Anders, K. Spawning papillomatosis of smelt, *osmerus eperlanus* L. from the elbe estuary/ K. Anders, H. Moller // J. Fish Dis. – 1985. - Vol. 8(2). - P. 233–235.
26. Anguillid herpesvirus 1 transcriptome / S.J. van Beurden [et al.] // J. Virol. – 2012a. - Vol. 86(18). - P. 10150-10161.
27. A preliminary report on pathogenicity and oncogenicity of cyprinid herpesvirus / T. Sano [et al.] // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. - 1990.-Vol. 10(1). - P. 11-13.
28. Ariav, R. First report of newly emerging viral disease of *Cyprinus carpio* species in Israel/ R. Ariav, S. Tinman, I. Bejerano// Diseases of Fish and Shellfish: 9th International Conference EAAP. - Rhodes, 1999. - P. 151.
29. Atlantic salmon papillomatosis in Russia and molecular characterization of the associated herpesvirus / A. Doszpoly [et al] // Dis. Aquat. Organ. – 2013. - Vol. 107(2). - P. 121-127.
30. A viral epizootic in cultured populations of juvenile goldfish due to a putative herpesvirus etiology / J. M. Groff [et al.] // J. Vet. Diagn. Invest. – 1998. – Vol.10. – P. 375-378.
31. Baek, Y.-S., Detection of channel catfish virus in adult channel by use of nested polymerase chain reaction / Y.-S Baek, J.A. Boyle // J. Aquat. Anim. Health. – 1996. - Vol. 8(2). - P. 97-103.
32. Bauer, O.N. Study of parasites of sturgeons in Russia: a review / O.N. Bauer, O.N. Pugachev, V.N. Voronin // J. of applied ichthyology. Proceedings of the 4th international symposium on sturgeon. – 2001. – Vol. 18. – P. – 420 – 429.

33. Beurden, S.J. Complete genome sequence and taxonomic position of anguillid herpesvirus 1/ S. J. van Beurden [et al.] // J. of General Virology. - 2010. – Vol. 91(4). - P. 880–887.
34. Beurden, S.J. Viral diseases of wild and farmed European eel *Anguilla Anguilla* with particular reference to the Netherlands / S.J. van Beurden [et al.] // Dis. Aquat. Organ. - 2012. - Vol. 101(1). - P. 69-86.
35. Bremont M. The major portal of entry of koi herpesvirus in *Cyprinus carpio* is the skin / B. Costes [t al] // J. of Virology. - 2009. - Vol. 83. - P. 2819–2830.
36. Bowser, P.R. Fish cell lines: establishment of a line from ovaries of channel catfish / P.R. Bowser, J.A. Plumb // In Vitro. - 1980. - Vol. 16. - P. 365-368.
37. Buchanan, J.S. Studies on herpesvirus scophthalmi infection of turbot scophthalmus maximus (L.) ultrastructural observations / Buchanan, J.S., Madeley, C.R // J. Fish Dis. – 1978. - Vol.1(4). - P. 283–295.
38. Bylund, G. Observations on epidermal papilomata in wild and cultured Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Finland / G. Bylund, E.T. Valtonen, E. Niemela// J. Fish Dis. - 1980. - Vol. 3. - P. 525-528.
39. Carlisle, J. C. An epidermal papilloma of the Atlantic salmon I: epizootiology, pathology and immunology / J.C. Carlisle, R.J. Roberts // J. Wildlife. Dis. – 1977. – Vol.13(3). - P. 230-234.
40. Case report: concurrent herpesviral and presumptive iridoviral infection associated with disease in cultured shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* (L.), from the Atlantic coast of Canada / LaPatra S.E. [et al.] // J. Fish Dis. - 2014. - Vol. 37(2). - P. 141-147.
41. Characterization of Austrian koi herpesvirus samples based on the ORF40 region / A. Marek [et al.] // Dis Aquat Org. – 2010. - Vol. 88(3). - P. 267-270.
42. Chen, S.N. A cell line derived from Japanese eel (*Anguilla japonica*) kidney/ S.N. Chen, Y. Ueno, G.H. Kou // Proc. Nutl. Sci. Counc. R.O.C. - 1982. - Vol. 6. - P. 93-100.

43. Comparative analysis of a conserved gene block from the genome of the members of the genus Ictalurivirus / A. Doszpoly [et al] // Intervirology. - 2011. - Vol. 54(5). - P. 282-289.
44. Comparative genomics of carp herpesviruses / A. J. Davison [et al] // J. Virol. – 2013. - Vol. 87(5). - P. 2908-2922.
45. Concentrations of Koi herpesvirus (KHV) in tissues of experimentally infected *Cyprinus carpio koi* as assessed by real-time TaqMan PCR / O. Gilad [et al.] // Diseases. Aquat. Org. – 2004. - Vol. 60. - P. 179–187.
46. Cyprinid herpesvirus 3 infection disrupts the skin barrier of common carp (*Cyprinus carpio* L.) / M. Adamek, [et al.] // Vet. Microbiol. – 2013. - Vol. 162(2-4). - P. 456–470.
47. Cyprinid herpesvirus 3 / B. Michel [et al.] // Emerging infectious Diseases. - 2010. - Vol. 16. - P.1835–1843.
48. Davison, A. J. Evolution of the herpesviruses/ A.J. Davison // Veterinary Microbiology. – 2002. - V. 86(1-2). - P. 69-88.
49. Davison, A.J. The genome of salmonid herpesvirus 1/ A.J. Davison// J. Virol. - 1998. - Vol. 72(3). - P. 1974-1982.
50. Demonstration of herpesvirus-like particles in skin lesions of the European eel (*Anguilla anguilla*)/ L. Bekesi [et al.] // J. Appl. Ichthyol. - 1986. - Vol. 2(4). - P. 190-192.
51. Detection of Cyprinid herpesvirus 2 in association with an *Aeromonas sobria* infection of *Carassius carassius* (L.), in Italy/ G. Fichi [et al.] // Journal of Fish Diseases. – 2013. - 36(10). - P. 823–830.
52. Detection of *Herpesvirus anguillae* during two mortality investigations of wild European eel in England: implication for fishery management / J. Armitage [et al.] // Fish Manage. Ecol. - 2014. - Vol. 21(1). - P. 1-12.
53. Development and validation of a real-time PCR assay for the detection of anguillid herpesvirus 1 / S.J. van Beurden [et al.] // J. Fish Dis. – 2016. -Vol. 39(1). - P. 95-104.

54. Development of a polymerase chain reaction assay to detect cyprinid herpesvirus 2 in goldfish / T.B. Waltzek [et al.] // J. of Aquat. Animal Health. – 2009. - Vol. 21(1). - P. 60–67.
55. Diseases of eels in an international perspective: Workshop on Eel Diseases at the 15th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Split, Croatia 2011 / O.L. Haenen [et al.] // Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. – 2012. - Vol. 32(3). - P. 109-115.
56. Dixon, P.F. Status of koi herpesvirus disease in Europe, and research on the virus in the United Kingdom/ P.F. Dixon, O.L.M. Haenen, N. Beevers// KHV infection: present status and future prospects for prevention. - Tokyo Japan, 2004. - P. 5-7.
57. Doszpoly, A. Partial genome analysis of siberian sturgeon alloherpesvirus suggests its close relation to ACIHV-2-short communication / A. Doszpoly, I. S. Shchelkunov // Acta Veterinaria Hungarica. – 2010. – Vol. 58(2). - P. 269–274.
58. Eaton W.D. Comparison of the DNA homologies of five salmonid herpesviruses / W. D. Eaton, W.H. Wingfield, R.P. Hedrick // Fish Pathol. - 1991. - Vol. 26(4). - P. 183-187.
59. Eaton W. D. Herpesvirus Diseases of Salmonids / W.D. Eaton, R.P. Hedrick // AFS-FHS (American Fisheries Society-Fish Health Section). – 1994. FHS blue book: suggested procedures for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens, 2012 edition. Bethesda, MD. Accessible at: <<http://afs-fhs.org/bluebook/bluebook-index.php>>.
60. Eaton W. D., Prevalence and experimental transmission of the steelhead herpesvirus in salmonid fishes / W.D. Eaton, W. H. Wingfield , R.P. Hedrick // Dis. aquat. Org. – 1989. - Vol. 7. - P.23-30.
61. Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease incultured *Cyprinus carpio* / A. Ronen [et al.] // Vaccine. – 2003. – Vol. 21(32). - P. 4677-4684.
62. Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel / A. Perelberg [et al.] // The Israeli J. Aquaculture. - 2003, Vol. - 55(1). - P. 5-12.

63. Epidemiology of cyprinid herpesvirus-3 infection in latently infected carp from aquaculture / A. Baumer [et al.] // *Dis Aquat Org.* - 2013. - Vol. 105(2). - P. 101-108.
64. Epizootic epitheliotropic disease of lake trout (*Salvelinus namaycush*): History and viral etiology / T. M. Bradley [et al.] // *Dis. Aquat. Org.* – 1989. - Vol.7(3). - P. 195–201.
65. Etiology and pathology of epidermal papillomas in allogynogenetic crucian carp *Carassius auratus gibelio* (♀) × *Cyprinus carpio* var. *singuanensis* (♂) / Lu Hongda [et al.] // *Diseas. Aquat. Org.* – 2009. - Vol. 83(1). - P. 77-84.
66. Evaluation of channel catfish virus latency on fingerling production farms in Mississippi / D.J. Thompson [et al.] // *J. Aquat. Anim. Health.* - 2005 - Vol. 17(3). - P. 211-215.
67. Fijan, N.N., An Acute Viral Disease of Channel Catfish / N. N. Fijan, T. L. J. Welborn, J. P. Natfel // U. S. Fish and Wildlife Service., Tech Paper 43. – 1970. – 70 p.
68. First detection of a viral agent causing disease in farmed sturgeon in Russia / I.S. Shchelkunov [et al.] // *Dis. Aquat. Org.* - 2009. - Vol. 86(3). - P. 193-203.
69. First detection of Cyprinid Herpesvirus 2 (CyHV-2) in goldfish (*Carassius auratus*) in France / P-M. Boitard [et al.] // *J. Fish Diseases.* - 2016. - Vol.39(6). - P. 673-680.
70. First detection of koi herpesvirus in cultured common carp *Cyprinus carpio* in Japan / M. Sano [et al.] // *Fish Pathol.* – 2004. - Vol. 39. - P.165-167.
71. First isolation of herpesvirus of eel (herpesvirus *Anguillae*) in diseased European eel (*Anguilla Anguilla* L.) in Europe/ A. Davidse [et al.] // *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* - 1999. - 19(4). - P.137 - 141.
72. Further virus characterization, diagnostics and prevention of Siberian sturgeon herpesvirus disease / Shchelkunov I. S. [et al.] // USA – Russia Bilateral Workshop On Aquaculture and FishHelth. USGS Wetern Fisheries Research Center, Seattle, WA, USA. – 2012. – P.14.

73. Galeotti, M. Abiotic factors and mixed bacterial infection caused mortality in cage reared Lena sturgeon (*Acipenser baeri*) / M. Galeotti [et al.] // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. – 2015. – Vol. 35(5). – P.192-200.
74. Genetic relationship among herpes-like viruses isolated from sturgeon / G.O. Kelly [et al.] // J. Aquat. Anim. Health. – 2005. - Vol. 17(4). - P. 297-303.
75. Genome sequences of three koi herpesvirus isolates representing the expanding distribution of an emerging disease threatening koi and common carp worldwide / T. Aoki [et al.] // J Virol– 2007. - Vol. 81(10). - P.5058–5065.
76. Glenney, G.W. Detection and Molecular Characterization of Namaycush Herpesvirus (Salmonid Herpesvirus 5) in Lake Trout / G.W. Glenney, Barbash P.A., J.A. Coll // J. Aquat. Animal. Health. - 2016. - Vol(1). 28. - P. 56-67.
77. Glenney, G.W. Validation and implementation of a real-time PCR assays for the detection of epizootic epitheliotropic diseases virus (EEDV/Salmonid herpesvirus 3) / G.W. Glenney, P.A. Barbash, J.A. Cole // J. Aquat. Anim. Health. - Vol.2016. - Vol. 28. - P. 56-67.
78. Goldfish hematopoietic necrosis herpesvirus (cyprinid herpesvirus 2) in the USA: Molecular confirmation of isolates from diseased fish / A.E Goodwin [et al.] // J. Aquat. Anim. Health. – 2006. – Vol. 18(1) - P. 11–18.
79. Goodwin, A.E. Detection of the herpesviral hematopoietic necrosis disease agent (cyprinid herpesvirus 2) in moribund and healthy goldfish: Validation of a quantitative pcr diagnostic method / A.E. Goodwin, G.E. Merry, J. Sadler // Dis. Aquat. Org. – 2006. - Vol.69(2-3). - P. 137-143.
80. Haematopoietic necrosis in a goldfish (*Carassius auratus*) associated with an agent morphologically similar to herpesvirus / F.J. Stephens, S.R. Raidal, B.Jones // Australian Veterinary J. 2004. – Vol. 82(3). - P.167–169.
81. Haematopoietic necrosis of cultured Prussian carp, *Carassius gibelio* (Bloch), associated with Cyprinid herpesvirus 2 / Luo Y.Z. [et al.] // J. of Fish Diseases. - 2013. – Vol. 36(12). - P. 1035–1039.

82. Hanson, L. Alloherpesviruses of Fish/ L. Hanson, A. Doszpoly, S.J. van Beurden, P.H. de Olivera Viadanna, T. Waltzek // *Aquaculture Virology* / Frederick S.B. Kibenge, Marcos G. Goby (eds.). - Academic Press, 2016. – P. 153-172.
83. Hanson, L.A., Channel Catfish Herpesvirus (CCV) Encodes a Functional Thymidine Kinase Gene: Elucidation of a Point Mutation That Confers Resistance to Ara-T/ L.A.Hanson, G.K. Konstantin, L.T. Ronald // *Virology*. – 1994. - Vol. 202 (2). - P. 659-664.
84. Hanson L. Herpesviruses that Infect Fish / L. Hanson, A. Dishon, M. Kotler // *Viruses*. – 2011. – Vol. 3(11). - P. 2160-2191.
85. Hanson, L.A., Ictalurid herpesvirus 1. In: Lui, D. (Ed.), *Molekular Detection of Animal Viral Pathogens*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL. - 2016. - P. 797-806.
86. Hanson, L.A. Susceptibility of channel catfish fry to channel catfish virus (CCV) challenge increases with age / L.A. Hanson, M.R. Rudis, L. Petrie-Hanson // *Dis. Aquat. Organ.* - 2004. - Vol. 62(1-2). - P. 27-34.
87. Hedrick, R.P. An iridovirus infection of the integument of the white sturgeon *Acipenser transmontanus* / R.P. Hedrick [et al.] // *Diseas. Aquat. Org.* – 1990. – Vol.8(1). – P. 39-44.
88. Hedrick, R.P. Isolation of an epitheliotropic herpesvirus from white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) / R.P. Hedrick, J.M. Groff, T. McDowell // *Diseas. Aquat. Org.* - 1991. - Vol. 11. - P. 49-56.
89. Hedrick, R.P. Response of adult channel catfish to waterborne exposures to channel catfish virus/ R.P. Hedrick, J.M. Groff, T. McDowell// *Prog. Fish Cult.* -1987. - Vol. 49(3). - P. 181-187.
90. Hedrick, R.P. Susceptibility of koi carp, common carp, goldfish, and goldfish x common carp hybrids to Cyprinid herpesvirus -2 and herpesvirus-3 / R.P. Hedrick, T.B. Waltzek, T.S McDowell // *J. Aquatic Animal Health*. – 2006. – Vol. 18(1). - P.26-34.

91. Hepatic lesions in a redstriped rockfish (*Sebastes proriger*) suggestive of a herpesvirus infection / M.L. Kent, M.S. Myers // *Dis. Aquat. Organ.* - 2000. - Vol. 41(3). - P. 237–239.
92. Herpesviral haematopoietic necrosis virus (CyHV-2) infection: case studies from commercial goldfish farms / Goodwin A.E. [et al.] // *Journal of Fish Diseases.* – 2009. - Vol. 32(3). - P. 271–278.
93. Herpesvirus cyprini: a search for viral genome in infected fish by in situ hybridization / N. Sano [et al.] // *J. Fish Dis.* – 1993a. – Vol.16(5). - P. 495-499.
94. Herpesvirus cyprini: Lethality and oncogenicity / T. Sano [et al.] // *J. Fish Dis.* - 1991. - 14(5). - P. 533–543.
95. Herpesvirus anguillae (HVA) isolations from disease outbreaks in cultured European eel, *Anguilla anguilla* in The Netherlands since 1996 / O.L.M. Haenen [et al.] // *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* – 2002. - Vol. 22(4). - P. 247-257.
96. Herpesvirus salmonis: Characterization of a New Pathogen of Rainbow Trout / K. Wolf [et al.] // *Journal of virology.* - 1978. - Vol.27(3). - P. 659-666.
97. Herpesvirus salmonis(HPV): First occurrence in anadromous salmonids / R.P. Hedrick [et al.] // *Bull. Eur. Ass. Fish parhol.* - 1986. - Vol.6 (3). - P. 66-68.
98. Histopathological and ultrastructural features of koi herpesvirus (KHV)-infected carp *Cyprinus carpio*, and the morphology and morphogenesis of KHV / T. Miyazaki [at al.] // *Diseas. Aquat. Org.* - 2008. - Vol. 80. - P. 1–11.
99. Histopathological characterization and fluorescence in situ hybridization of Cyprinid herpesvirus 2 in cultured Prussian carp, *Carassius auratus gibelio* in China / Z. Ding [et al.] // *Journal of Virological Methods.* - 2014. - Vol. 206. - P.76–83.
100. Histopathological Study on Oncorhynchus masou Virus Disease (OMVD) of Cultured Rainbow Trout in Natural Outbreaks and Artificial Infection / M. Furihata [et al.] // *Fish Pathology.* - 2005, - Vol. 40(4). - P. 161-167.
101. Hua Yu-ping. A review of sturgeon virsis / Yu-ping Hua, Di Wang // *J. of Forestry Research.* – 2005. – Vol.16(1). – P. 79-82.
102. ICTV.Virus Taxonomy. International Commitee on Taxonomy of Viruses. 2016. <http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>. P. 101-108.

103. Incursions of Cyprinid herpesvirus 2 in goldfish populations in Australia despite quarantine practices / J. A. Becker [et al.] // *Aquaculture*. – 2014. - Vol. 432. - P. 53–59.
104. Initial characteristics of koi herpesvirus and development of a polymerase chain reaction assay to detect the virus in koi, *Cyprinus carpio koi* / O. Gilad [et al.] // *Diseas. Aquat. Org.* - 2002. - Vol. 48(2). - P. 101-108.
105. Initial Isolation and Characterization of a Herpes-like Virus (KHV) from Koi and Common Carp / R.P. Hedrick [et al.] // *Bull. Res. Agen.* - 2005. – 2. - P. 1-7.
106. Intrinsic and Innate Defenses of Neurons: Détente with the Herpesviruses / L. W. Enquist, D. A. Leib // *J. Virol.* – 2017. - Vol. 91(1): e01200-16.
107. Investigation of koi herpesvirus latency in koi / K. E. Eide [et al.] // *J. of Virology* Vol. – 2011. – Vol. – 85. - P. 4954–4962.
108. Isolation and molecular characterization of herpesvirus from cultured European eels *Anguilla Anguilla* in Taiwan / P.H. Chang [et al.] // *Dis. Aquat. Organ.* – 2002. - Vol. 50(2). - P. 111-118.
109. Isolation of an herpesvirus in breeding catfish (*ictalurus melas*) / L. Alborali, [et al.] // *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* - 1996. - Vol.16(4). - P. 134–137.
110. Isolation of a cyprinid herpesvirus 2 from goldfish, *Carassio auratus* (L.) in UK. / K.R. Jeffery [et al.] // *J of Fish Diseases.* – 2007. - Vol. 30(11). - P. 637-714.
111. Isolation of channel catfish virus from channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), broodstock / P. R. Bowser [at al.] // *J. Fish Dis.* - 1985. - Vol. 8(6). - P. 557-561.
112. Isolation and characterization of an atypical Siberian sturgeon herpesvirus strain in Russia: novel North American Acipenserid herpesvirus 2 strain in Europe? / A. Doszpoly [et al.] // *J. Fish Dis.* – 2017. - February 27. - P. 1-10.
113. Isolation and preliminary characterization of a pathogenic icosahedral deoxyribovirus from the catfish *Ictalurus melas* / F. Poset [et al.] // *Dis. aquat. Org.* - 1992. - Vol. 14. - P. 35-42.

114. Ito, T. Effects of experimentally induced infections of goldfish *Carassius auratus* with cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2) at various water temperatures / T. Ito, Y. Maeno // *Diseas. Aquat. Org.* – 2014. - Vol.110(3). - P. 193–200.
115. Jakob, N. A novel fish herpesvirus *osmerus eperlanus* / N. Jakob, R. Kehm, H. Gelderblom // *Virus Genes.* - 2010. - Vol. 41(1). - P. 81–85.
116. Jun, Lu. Hematological and Histological Changes in Prussian Carp *Carassius gibelio* Infected with Cyprinid Herpesvirus 2 / Lu Jun, Lu Hongda, Cao Genping // *J. Aquat. Anim. Health.* – 2016. - Vol.28(3). - P. 150-160.
117. Jung, S.J. Herpesviral haematopoietic necrosis of goldfish *Carassius auratus* (L.) / J.S. Jung, T. Miyazaki // *J. of Fish Diseases.* – 1995. – Vol. 18(3). - P. 211-220.
118. Kamei, Y. Plaque assay of *Oncorhynchus masou* virus (OMV) / Y. Kamei, M. Yoshimizu, T. Kimura // *Fish Pathology.* – 1987. - Vol. 22(3). P. 147-152.
119. Kim, H. J. Molecular evidence of anguillid herpesvirus-1 (AngHV-1) in the farmed Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel, in Korea // H. J. Kim [et al.] // *J. of Fish Diseases.* - 2012. – Vol. 35(4). - P. 315–319.
120. Kimura, T. Studies on a new virus (OMV) from *Oncorhynchus masou*. II. Oncogenic nature / T. Kimura, M. Yoshimizu, M. Tanaka // *Fish Pathology.* – 1981b. - Vol. 15(3/4). - P.149-153.
121. Kimura, T. Susceptibility of different fry stages of representative salmonid species to *Oncorhynchus masou* virus (OMV) / T. Kimura, M. Yoshimizu, M. Tanaka // *Fish Pathology.* – 1983. – Vol.17(4). - P. 251-258.
122. Kobayashi, T. Characterization and pathogenicity of a herpesvirus isolated from cutaneous lesion in Japanese eel, *Anguilla japonica* / T. Kobayashi, T. Miyazaki // *Fish Pathol.* - 1997. - Vol. 32(2). - P. 89-95.
123. Koi herpesvirus epizootic in cultured carp and koi *Cyprinus carpio* L., in Taiwan / L. Cheng [et al.] // *J. of Fish Dis.* – 2011. - Vol. 34(7). - P. 547–554.
124. Koi herpesvirus represents a third cyprinid herpesvirus (CyHV-3) in the family *Herpesviridae* / T.B. Waltzek [et al.] // *J. Gen. Virol.* – 2005. - Vol. 86. - P.1659–1667.

125. Kumagai, A. Optimal conditions for isolation of salmonid herpesvirus type 2 from maricultured coho salmon / A. Kumagai, H. Fukuda, K. Takahashi // Fish Pathol. - 1994. - Vol. 29(3). - P. 205-209.
126. Kumagai, A. Pathogenicity of SalHV-2 isolated from marine-cultured coho salmon to salmonids / A. Kumagai, K. Takahashi, H. Fukuda // Fish Pathol. - 1995. - Vol. 30(3). - P. 215–220.
127. Kurobe, T. PCR assay for improved diagnostics of epitheliotropic diseases virus (EEDV) in lake trout *Salvelinus namaycush* / T. Kurobe, S. Marcquenski, R.P. Hedrick // Dis. Aquat. Organ. - 2009. - Vol. 84(1). - P. 17-24.
128. Lannan, C.N. Fish cell lines: establishment and characterization of nine cell lines from salmonids/ C.N. Lannan, J.R. Winton, J.L. Fryer // In Vitro. - 1984.-Vol. 20(9). - P. 671-676.
129. Lee, N-S. Gill filament necrosis in farmed Japanese eels, *Anguilla japonica* (Temminck & Schlegel), infected with Herpesvirus anguillae // N-S. Lee, J. Kobayashi, T. Miyazaki // Journal of Fish Diseases. – 1999. – 22. - P. 457-463.
130. Leibovitz, L. A viral dermatitis of the smooth dogfish, *mustelus canis* (mitchill) / L. Leibovitz, L. , S.S. Lebouitz // J. Fish Dis. – 1985. - Vol. 8(3). - P. 273–279.
131. Li, X. In vitro culture of goldfish cell sensitive to goldfish herpesvirus / X. Li., H. Fukuda // J. Shanghai Fish. University. - 2003 - Vol.12(1). - P. 12-18.
132. Lovy, J. Cyprinid herpesvirus-2 causing mass mortality in goldfish: applying electron microscopy to histological samples for diagnostic virology / J. Lovy, S. Friend // Dis Aquat Org. – 2014. - Vol. 108(1). - P. 1-9.
133. Lowenthal, W. Einschlussartige Zell- und Kernveränderungen in der Karpfenpocke / W. Lowenthal Z. Krebsforsch // 1907 -B 5. - S. 197-204.
134. Massive mortality of Prussian carp *Carassius gibelio* in the upper Elbe basin associated with herpesviral hematopoietic necrosis (CyHV-2) / T. Danek [et al.] // Diseases of Aquatic Organisms. – 2012. - Vol. 102. - P. 87–95.
135. Mass mortalities in Koi carp, *Cyprinus carpio*, associated with gill and skin disease / A. Bretzinger [et al.] // Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol. – 1999. - Vol. 19(5) - P.182-185.

136. Mass mortality caused by Cyprinid Herpesvirus 2 (CyHV-2) in Prussian carp (*Carassius gibelio*) in China / L. Wang [et al.] // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. - 2012. - Vol.32(5). - P. 164-173.
137. McAllister, P.E. Epizootic mortality in hatchery-reared lake trout *Salvelinus namaycush* caused by a putative virus possibly of the herpesvirus group / P.E. McAllister, R.L. Herman // Dis. aquat. Org. - 1989. - Vol. 6. - P. 113-119.
138. McAllister, P.E., Salmonid fish viruses. In: Stoskopf, M.K. (Ed.), Fish Medicine. WB Saunders, Philadelphia, PA. - 1993. - P. 380-408.
139. McAllister, P. Viral diseases of fish: First report of carp pox in golden ide (*leuciscus idus*) in north America / P. McAllister [et al.] // J. Wildl. Dis. - 1985. - Vol. 21(3). - P. 199-204.
140. McArn, G.E. Skin lesions and associated virus in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) in the Bering Sea// G.E. McArn, B. McCain, S.R. Welling // Fed. Proc. - 1978. - Vol. 37. - P. 937.
141. McCain, B.B. Tumours and microbial diseases of marine fishes in alaskan waters / B.B. McCain [et al.] // J. Fish Dis.- 1979. - Vol. 2(2). - P. 111-130.
142. McCraren, J.P. Channel catfish virus disease/ Fish health bulletin №2 / J.P. McCraren, J. A. Plumb, G.L. Bullock // Fish and wildlife service kearneysville wv national fish health research AB. - 1989. - P.- 6.
143. Mellergard, S. Herpesvirus-like particles in angelfish *pterophyllum altum* / S. Mellergard, B. Bloch // Dis. Aquat. Org. - 1988. - Vol. 5. - P. 151-155.
144. Mettenleiter, T. C. Herpesvirus assembly: An update / T. C. Mettenleiter, B. G. Klupp, H. Granzow // Virus Research. - 2009. - Virus Research. - 2009. - Vol. 143(2). - P. 222-234.
145. Miwa, S. Morphogenesis of koi herpesvirus observed by electron microscopy / S. Miwa, T. Ito, M. Sano // J. of Fish Diseases. - 2007. - Vol.30. - P. 715-722.
146. Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, the koi herpesvirus, and the effect of water temperature on mortality of experimentally infected koi / O. Gilad [et al.] // J. Gen. Virol. - 2003. - Vol. 84. - P.2661-2668.

147. Molecular confirmation of a new herpesvirus from catfish (*Ameiurus melas*) by testing the performance of a novel PCR method, designed to target the DNA polymerase gene of alloherpesvirus/ A. Doszpoly [et al.] // Arch. Virol. - 2008.- Vol. 153.-P. 2123-2127.
148. Morrison, C.M. Visualization of viruses in tumors of rainbow smelt *osmerus mordax* / C.M. Morrison, C.T. Leggiadro, D.J. Martell, D.J // Diseas. Aquat. Org. – 1996. - Vol. 26(1). P. 19–23.
149. Nieger, R.D. South Dakota wild Goldfish (*Carassius auratus*) die off due to Cyprinid Herpesvirus-2 / R.D. Nieger, T.S. Sauver, P. Leslie-Steen // Aquat. Vet. – 2015 - Vol.9. - P.38.
150. OIE, 2015. Koi herpesvirus diseases. In: Diagnostic Manual for AquaticAnimal.Diseases.Paris(Chapter2.3.7).http://www.oie.int/index.php?id=2439&L=0&htmfile=chapitre_koi_herpesvirus.htm.
151. Outbreak of salmonid herpesviral disease in cultured rainbow trout / M., A. Furihata [et al.] // Fish Pathology. - 2003 - Vol. 38(1). - P.23-25.
152. Partial genome characterization of acipenserid herpesvirus 2: taxonomical proposal for the demarcation of three subfamilies in Alloherpesviridae / A. Doszpoly [et al.] // Arch Virol. - 2011. – Vol. 156. - P. 2291-2296.
153. Pathogenesis of acute and chronic diseases caused by cyprinid herpesvirus-3 / S. Miwa [et al.] // J. of Fish Diseases. - 2015. - Vol. 38. - P. 695-712.
154. Pathogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus / E. Pikarsky [et al.] // J. of Virology. – 2004. - Vol. 78(17). – P. 9544–9551.
155. Pathogenesis of Herpesvirus anguillae (HVA) in juvenile European eel *Anguilla anguilla* after infection by bath immersion / N. Basav [et al.] // Dis Aquat Org. - 2007. - Vol. 78. - P. 13–22.
156. Plumb, J.A. Channel catfish virus disease/ J.A. Plumb // Fish diseases leaflet, Univ. of Nebraska – Lincoln. - 1986. - P. 1-9.

157. Plumb, J.A. Channel catfish virus disease / J.A. Plumb, J.L. Gaines // The pathology of fishes / W.E. Ribelin, G. Migaki (eds). - Madison: Univ. Wisconsin Press. - 1975. - P. 287-302.
158. Plumb, J.A. Effects of temperature on fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*) experimentally infected with channel catfish virus / J.A. Plumb // J. Fish Res. Board Can. - 1973. - Vol. 30. - P.568-570.
159. Plumb, J.A. Epizootiology of channel catfish virus disease / J.A. Plumb // Mar. Fish. Rev. 1978. – Vol. 40(3). - P. 26-29.
160. Plumb, J.A. Histopathology and electron microscopy of channel catfish virus in infected channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) / J.A. Plumb, J.L. Gaines, E.C. Mora // J. Fish Biol. - 1974. - Vol. 6(5). - P. 661-664.
161. Plumb, J.A. Neutralization of channel catfish virus by serum of channel catfish / J.A. Plumb // J. Wildl. Dis. - 1973. - Vol. 9(4). - P. 324-330.
162. Plumb, J.A. Resistance of the European catfish (*Silurus glanis*) to channel catfish virus / J.A. Plumb, V. Hilge, E.E. Quinlan // J. Appl. Ichthyol. -1985.-Vol.1(2). - P.- 87-89.
163. Plumb, J.A. Tissue distribution of channel catfish virus / J.A. Plumb // J. Wild Dis. – 1971. – Vol. 7.- P. – 213-216
164. Rapid Detection of Cyprinid Herpesvirus 3 in Latently Infected Koi by Recombinase Polymerase Amplification / M. A. Prescott J. [et al.] // Aquat. Anim. Health. - 2016. - Vol 28(3). - P. 173-180.
165. Results of total DNA measurement in koi tissue by koi herpes virus real-time pcr / K. Eide [at al.] // J. Virol. Methods. – 2011. - Vol. 172(1-2). - P. 81–84.
166. Revised phylogenetic relationships among herpesviruses isolated from sturgeons / T. Kurobe [et al.] // J. Aquat. Health. – 2008. - Vol. 20(2). - P. 96-102.
167. Richards, R.H. Studies on Herpesvirus scophthalmi infection of turbo *Scophthalmus maximus* (L.): histopathological observations / R.H. Richards, J.S. Buchanan // J. Fish Dis. - 1978. - Vol. (3)1. - P. 251- 258.

168. Roncarati, A. Comparison of growth performance of Common Catfish *Ameirus melas*, Rafinesque 1820, reared in pond and in recirculating aquaculture system / A. Roncarati [et al.] // J. Aquacult. Res. Develop. – 2014. - Vol. 5(2). - P. 1-6.
169. Salmonid herpesvirus 2. Epizootiology and serological relationship / M. Yoshimizu [et al.] // Vet. Res. - 1995. - Vol. 26. - P. 486-492.
170. Some properties of the *Epithelioma papulosum cyprini* (EPC) cell line from carp *Cyprinus carpio* / N. Fijan [et al.] // Ann. Virol. (Inst. Pasteur). - 1983. —Vol. 134.E -P. 207-220.
171. Sano, M. Isolation and characterization of a new herpesvirus from eel / M. Sano, H. Fukuda, T. Sano // In: Pathology in Marine Science, Perkins, T.O. and Cheng, T.C., (ed.). - Academic Press, New York, 1990. - P. 15-31.
172. Sano, N. Herpesvirus cyprini: thermal effects on pathogenicity / N. Sano, M. Morikawa, T. Sano // Fish Pathol. – 1993b. - 28(4). - P.171-175.
173. Sano, T. Herpesvirus cyprini: biological and oncogenic properties/ T. Sano, H. Fukuda, M. Furukawa // Fish Pathology - 1985. – Vol. 20(2/3). - P. 381-388.
174. Sano, T. Viral diseases of cultured fishes in Japan / T. Sano // Fish Pathol. – 1976. - Vol. 10(2). – P. 221-226.
175. Sano, T. Yamame tumor virus: lethality and oncogenicity/ T. Sano, H. Fukuda, N. Okamoto // Bull. Jap. Soc. Scient. Fish. - 1983. -Vol. 49. - P. 1159-1163.
176. Schubert, G.H. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Pockenkrankheit des Karpfens / G.H. Schubert // Z. Naturforsch. - 1964. - B19. - S. 675-682.
177. Schubert, G.H. The infective agent in carp pox / G.H. Schubert // Bull. Off. Int. Epizoot. - 1966. - Vol. 65. - P.1011- 1022.
178. Serological and genetical relationships of three herpesvirus strains from salmonid fish / Y. Hayashi [et al.] // Virology. – 1989. – Vol. 104(1-2). - P. - 163-168.
179. Serological relationships of five herpesviruses isolated from salmonid fishes / R. P. Hedrick [et al.] // J. Appl. Ichthyol. – 1987. – Vol.3(2). - P. 87-92.
180. Shchelkunov, I.S. Atlantic salmon papillomatosis: visualization of herpesvirus-like particles in skin growths of affected fish / I.S. Shelkunov, T.A. Karaseva, Y.P. Kadoshnikov // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. - 1992. - Vol. 12(1). - P. 28-31.

181. Shchelkunov I.S. Effect of chemical and Physical factors on infectivity of Siberian sturgeon herpesvirus / I. S. Shchelkunov, T. I., Shchelkunova, V.I. Balysheva // Russian Agricultural Sciences. – 2010. – Vol. 36 (2). – P. 133 – 135.
182. Skin infection on the sheatfish (*Siluris glanis*) caused by a herpesvirus / L. Bekesi [et al.] // In: Fish, pathogens and environment in European Polyculture. Fish Res.Inst. Szarvas, Hungary. - 1981. - P. 58-69.
183. Steinhagen, D. Virus-associated epidermal hyperplasia in golden ide *Leuciscus idus melanotus* D. Steinhagen, P. Kruse, M. Neukirch // Dis. Aquat. Org. - 1992. - Vol. 13. - P. 225-229.
184. Studies on a New Virus (OMV) from *Oncorhynchus masou*.I. Characteristics and Pathogenicity / T. Kimura [et al.] // Fish Pathology. - 1981a. - Vol. 15 (3/4). - P.143-147.
185. Subclinical herpesvirus infection in farmed turbot *scophthalmus maximus* / H. Hellberg [et al.] // Dis. Aquat. Org. – 2002. - Vol.49(1). - P. 27–31.
186. Susceptibility of cyprinid cultured cells to cyprinid herpesvirus 3/ M. Davidovich [et al.] // Arch. Virol. – 2007. - Vol. 152(8). - P. 1541-1546.
187. Suzuki, K. Herpesvirus infection of rainbow trout/ K. Suzuki, M. Hatakeyama, M. Yoshimizu // J. Soc. Fish Pathol. - 1993. - Vol. 15. - P. 22.
188. Systemic herpes-like virus in catfish ictalurus melas (italy) differs from ictalurid herpesvirus 1 (North America) / R.P. Hedrick [et al.] // Dis. Aquat. Org. – 2003. - Vol. 55(2). - P. 85-92.
189. Tanaka, M. Oncorhynchus masou virus: Pathological changes in masu salmon (*Oncorhynchus masou*), chum salmon (*O. keta*) and coho salmon (*O. kisutch*) fry infected with OMV by immersion method / M. Tanaka, M. Yoshimizu, T. Kimura // Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. – 1984. – Vol. 50(3). - P.431-437.
190. The emergence of koi herpesvirus and its significance to European aquaculture / O.L.M, Haenen [et al.] // Bull. Eur. Ass. Fish Path. - 2004. - Vol. 24(6) - P. 293-307.

191. The histo- and ultrathological studies on a fatal disease of prussian carp (*Carassius gibelio*) in mainland China associated with cyprinid herpesvirus 2 (CyHV2) / T. Wu [at al.] // *Aquaculture*. – 2013. - Vol. 412–413. - P. 8–13.
192. The outbreak of carp disease caused by CyHV-3 as a model for new emerging viral diseases in aquaculture: a review / M. Ilouze [at al.] // *Ecol. Res.* – 2011. - Vol. 26(5). – P. 885–892.
193. Viral diseases of fish: first report of carp pox in golden ide (*Leuciscus idus*) in North America / McAllister P.E. [et al.] // *Journal of Wildlife Diseases* - 1985. - Vol. 21(3). - P. 199-204.
194. Walster, C. A note on Koi Herpes Virus(KHV): current situation and issues arising / C. Walster // *Fish Vet. J.* – 2003. - Issue.7. - P. 77-81.
195. Walster, C. Clinical observations of severe mortalities in koi carp, *Cyprinus carpio*, with gill disease / C. Walster // *Fish Vet. J.* - 1999- Issue. 3 - P. 54-58.
196. Walster, C. Koi carp mortality syndrome: an update / C. Walster // *Fish Vet. J.* – 2000. - Issue. 5. - P. 72-75.
197. Waltzek, T.B. Phylogenetic relationships in the family *Alloherpesviridae* / T.B. Waltzek [et al.] // *Dis. Aquat. Org.* – 2009. - Vol. 84(3). - P. 179–194.
198. Watson, L.R. Characteristics and pathogenicity of a novel herpesvirus isolated from adult and sub adult white sturgeon *Acipenser transmontanus* / L.R. Watson [et al.] // *Dis. Aquat. Org.* - 1995. - Vol. 22(3). - P. 199-210.
199. Way, K. Koi herpesvirus and goldfish herpesvirus: an update of current knowledge and research at Cefas / K. Way // *Fish Vet. J.* - 2008. - Issue. 10. - P. 62-73.
200. Winton, J. R. Anthropogenic drivers of emerging viruses in fish / J.R. Winton // *Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol.* - 2016. - Vol. 36(4). - P.164-168.
201. Wolf, K. Atlantic salmon papillomatosis / K. Wolf // In: Wolf K. Fish viruses and fish viral diseases. Cornell University Press, Ithaca, New York. - 1988. – P. 407–411.
202. Wolf, K. Channel catfish viruses: a new herpesvirus of ictalurid fish / K. Wolf; W. Darlington // *J. Virol.* – 1971. - Vol. 8(4). - P. 525-533.

203. Wolf K. Herpesvirus salmonis: pathological changes in parenterally-infected rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, fry / K. Wolf, C. E. Smith // *J. of Fish Diseases*. – 1981. –Vol. 4. - P. 445-457.
204. Wolf, K. Salmonid viruses: a syncytium-forming agent from rainbow trout / K. Wolf K., W. Taylor // *Fish Health News*. – 1975. Vol.4(2). - P. 3.
205. Yamamoto, T. Epidermal hyperplasias of northern pike (*Esox lucius*) associated with herpesvirus and c-type particles / T.Yamamoto, R.K. Kelly, O. Nielsen // *Arch. Virol*. - 1984. – Vol.79(3-4). - P. 255–272.
206. Yoshimizu M. Control strategy for viral diseases of salmonid fish, flounders and shrimp at hatchery and seed production facility in Japan / M. Yoshimizu // *Fish Pathol*. – 2009. –Vol. 44(1). - P. 9-13.
207. Yoshimizu M. Oncogenic viruses and *Oncorhynchus masou* virus / M. Yoshimizu, H.Kasai // In: Woo, P., Bruno, D. (Eds), *Fish Diseases and Disorders*. - Vol.3. - Viral, Bacterial and Fungal Infections. CAB International, Cambridge, MA. -2011. - P. 276-301.
208. Yoshimizu, M. *Oncorhynchus masou* virus disease.2012. AFS-FHS (American Fisheries Society-Fish Health Section). FHS blue book: suggested procedures for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens, 2014 edition. Accessible at: <<http://afs-fhs.org/bluebook/bluebook-index.php>>.
209. Yoshimizu, M., *Oncorhynchus masou* Virus (OMV): Incidence of Tumor Development among Experimentally Infected Representative Salmonid Species / M. Yoshimizu, M. Tanaka, T.Kimura // *Fish Pathology*. - 1987. - Vol. 22(1) - P. 7-10.
210. Yuasa, K. Goldfish is Not a Susceptible Host of Koi Herpesvirus (KHV) Disease / K. Yuasa, M. Sano, N. Osek // *Fish Pathology*. - 2013. - Vol. 48(2). - P. 52-55.
211. (7.36)Yuasa K. Koi Herpesvirus Disease / K. Yuasa // *Fish Pathology*. - 2016. - Vol. 51(3). - P. 99-102.
212. https://viralzone.expasy.org/528?outline=all_by_species