

## **ЖИВОТНОВОДСТВО И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА**

УДК 619:615.371:639.3

Р. Л. АСАДЧАЯ

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВАКЦИН В РЫБОВОДСТВЕ**

*Институт рыбного хозяйства НАН Беларуси*

Проблема защиты рыб от бактериальных инфекций остается актуальной как для Беларуси, так и других стран, занимающихся аквакультурой. Несмотря на определенные успехи, достигнутые в последние годы в разработке мер профилактики и терапии инфекционных заболеваний рыб, вспышки бактериальных и вирусных заболеваний по-прежнему нередки и наносят значительные экономические потери рыбноводным предприятиям разных стран. Что касается Республики Беларусь, то в наших предприятиях наиболее часто причиной массовой гибели рыб являются инфекции, вызываемые бактериями р. *Aeromonas*. Работы в данном направлении, проводимые в последние годы, позволили добиться определенных успехов, однако поиск новых экологически безопасных мер профилактики и терапии инфекционных болезней рыб не теряет своей актуальности.

Цель исследования – на основании изучения существующих в разных странах биологических препаратов (вакцин) рассмотреть возможность создания вакцины для профилактики бактериальных заболеваний рыб в рыбноводных предприятиях Беларуси.

**Материалы и методы исследований.** Работы выполнялись в лаборатории болезней рыб Института рыбного хозяйства НАН Беларуси. Материалом для изучения резистентности организма рыб служили белый амур, белый и пестрый толстолобик разных возрастных групп в количестве 620 экз. В экспериментах использовано 27 штаммов бактерий р. *Aeromonas* из микробиологической коллекции лаборатории.

Патогенность бактериальных штаммов на первом этапе определяли на ДНКазном агаре, на втором этапе – методом биопробы [1].

Наращивание биомассы аэромонад для получения РНК-содержащего препарата проводили культивированием на мясопептонном бульоне и мясопептонном агаре. Из разрушенной клеточной массы, согласно методике быстрого выделения РНК из грамотрицательных бактерий [2], получали РНК-содержащий препарат.

**Результаты и их обсуждение.** Многие ученые из разных стран пытались создать биологические препараты (вакцины) против инфекционных заболеваний рыб. Например, польскими учеными проведена оценка влияния моновалентной вакцины *A. hydrophila* и *A. sobria* на иммунитет у карпа против гетерологичных штаммов р. *Aeromonas*. При оценке эффективности иммунизации данными штаммами у карпов отмечен частичный иммунитет независимо от рода антигена и способа применения вакцины. У рыб, иммунизированных методом иммерсии, установлен высокий уровень иммунитета. При этом антиген *A. hydrophila* защищает более эффективно против гетерологичного штамма *A. hydrophila*, чем против штамма *A. sobria*, кроме того, двойная иммунизация не повышала защитный иммунитет по сравнению с разовой иммунизацией [3].

Этими же учеными изучено соотношение между преобладанием в нормальной сыворотке агглютинов и преципитинов к *Aeromonas hydrophila* и *A. veronii*, биотипу *sobria* у карпов и восприимчивость рыб к заражению этими бактериями. Наличие антител зависит от популяций карпа и индивидуальных особенностей рыб. В результате проведенных исследований корреляции между преобладанием агглютинов и восприимчивостью карпов к инфекции не обнаружено. Рыбы, выра-

батывающие преципитин к штаммам аэромонад, показали значительно меньшую восприимчивость к инфицированию гомологичными штаммами, чем таковую без преципитинов [4].

Китайскими учеными проводилась вакцинация серебряного карася, белого и пестрого толстолобиков против бактериальной септицемии инактивированным формалином клеточным бактерином *Aeromonas hydrophila* шт. TPS-30, который был выделен из больного *Mygalobromar amblycephala* методом иммерсии. Серебряного карася погружали в лечебные ванны с бактерином на 1, 5, 60 мин в прудах площадью 6,6 га и в озере площадью 533 га. Степень выживаемости взрослых рыб повышалась более чем на 15%. Стоимость лекарств для лечения уменьшалась на 80%. Гибель рыб, иммунизированных в озере, была на 55,8% меньше, чем в контрольной группе [5].

Knappskog D. H., Maaseide N. P. и др. проводилось вакцинирование радужной форели неадыювантной вакциной против вибриоза и адыювантной вакциной против вибриоза и фурункулеза и в их комбинации в полевых условиях методами иммерсии и инъекции. Эффективность вакцинации и продолжительность иммунитета оценивали у рыб, экспериментально зараженных *A. salmonicida* и *Vibrio anguillarum*. Отмечена слабая реакция у рыб, иммунизированных неадыювантной вакциной, по сравнению с адыювантной, при иммунизации которой наблюдался высокий уровень специфических антител. Однако, несмотря на сравнительно низкий титр антител в сыворотке у рыб, вакцинированных неадыювантной вакциной, экспериментальное заражение показывает высокий уровень защиты против экспериментального вибриоза [6].

Н. Гусевой создана вакцина VYS-2, которая первоначально предназначалась для защиты карпа и других рыб от септицемии, вызываемой подвижными аэромонадами (MAS). Однако во время полевых испытаний было отмечено, что введение вакцины рыбам защищает их не только от MAS, но и от смешанной инфекции (*Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae sp.*) и энтеро-септических заболеваний различной этиологии. Для изучения защитного действия VYS-2 против вибриоза лососевых рыб заражали *Vibrio anguillarum* в различных концентрациях. Уровень гибели радужной форели после заражения высокими дозами составил 26,6% для вакцинированных рыб и 80% для контрольных, уровень гибели кумжи составил 20 и 68% соответственно. После заражения малыми концентрациями патогенов гибели рыбы не наблюдали [7].

Klesius Phillip H., Shoemaker Graig A. и др. проводилась оценка эффективности вакцины для защиты от стрептококкоза, изготовленной из убитых формалином клеток *Streptococcus iniae* и концентрированных экстрацеллюлярных продуктов (больше 2 КДа), используя каждый из трех изоляторов бактерий (ARS-10, ARS-47, ARS-60), выделенных из трех линий нильской тилапии. Вакцину вводили внутривентриально (IP) и внутримышечно (IM). Во всех опытах при IP-вакцинации у рыб отсутствовали признаки стрептококкового заболевания – беспорядочные движения, геморрагическая экзофтальмия и мутность глаз. При оценке эффективности IM-иммунизации признаки заболевания стрептококкозом некоторых рыб были очевидны. Таким образом, IP-вакцинация более эффективна для защиты от стрептококкового заболевания всех видов тилапии при заражении изолятами *S. iniae* [8].

Этими же учеными создана живая вакцина против *Flavobacterium columnare* у сазана. Погружение рыб в лечебную ванну стимулирует приобретение иммунитета против заражения вирулентной *F. columnare*. Процент выживаемости рыб после вакцинации составляет от 60 до 97,3% [9].

Однако применение вакцин не всегда эффективно. Причины этого необходимо всесторонне изучать, чтобы избежать в дальнейшем как гибели рыб, так и экономических потерь. Например, в мышцах вакцинированных лососей выявлены очаги пигментации диаметром 4–5 см, наиболее многочисленные в области печени и боковой линии. Гистопатологические изменения в мышцах соответствовали картине грануломатозного воспаления. Предполагается, что развитие воспалительных изменений в мышцах вакцинированных лососей может быть связано с использованием масляного адыюванта [10].

Считается, что оральный способ вакцинации – простой, дешевый и идеален для массового применения рыбам всех возрастов. Однако в ряде случаев оральная вакцинация имеет либо слабую эффективность, либо кратковременное действие, либо неадекватную реакцию. На основе *Aeromonas hydrophila* создана биопленка на субстрате, устойчивая к антибиотикам и фагоцитозу. Гликокаликсный матрикс такой вакцины осуществляет ее защиту от переваривания в желудочно-кишечном тракте [11].

На основании литературного обзора исследований по изучению используемых в аквакультуре молекулярных методов следует отметить, что на современном этапе исследования идут в двух направлениях: во-первых, это разработка рекомбинантных вакцин и второе – молекулярное типирование патогенов [12].

Нами были предприняты попытки создания биологического препарата для повышения иммунитета рыб на основе РНК штаммов бактерий р. *Aeromonas*.

На первом этапе была изучена патогенность для рыб 27 штаммов бактерий р. *Aeromonas* из коллекции лаборатории и отобраны для дальнейшей работы 2 штамма – Aer-105 и Aer-121. В условиях лаборатории были получены необходимые количества бактериальной массы обоих штаммов, из которых впоследствии выделена РНК.

Иммуностимулирующей активностью обладал только один препарат, полученный из штамма Aer-121. Этот препарат, получивший рабочее название РНК-АЭР-121, при введении *per os* и внутримышечно вызывал повышение таких показателей иммунитета, как фагоцитарный индекс и фагоцитарное число на 30–35%.

Препарат оказался эффективен при заражении рыб бактериями *Aeromonas hydrophila* и *A. punctata*.

Таким образом, создание вакцины для профилактики инфекционных заболеваний рыб в Беларуси возможно, и начатые в этом направлении работы будут продолжены. Основные наши исследования будут направлены на создание рекомбинантной вакцины на основе штаммов, выделенных в рыбхозах республики.

## Литература

1. Методические указания по лабораторной диагностике аэромоноза (краснухи) карпов, утв. Главным управлением ветеринарии Госагропрома СССР от 23.04.1986 г. М., 1986.
2. Current protocols in molecular biology // Edited by Frederick M. Ausubel, Roger Brent, Robert E. Kingston, Dawid D. Moore, I. G. Seitzman, John A. Smith, Kevin Struhl. Greene Publishing Associates L. Wiley. Interscience, 1992. Vol. 1.
3. Immune cross reaction in carp (*Cyprinus carpio* L.) after single or double immunization with *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* antigens / Kozińska Alicja, Antychowicz Jerzy // Bull. Vet. Inst. Pulawy. 2001. Vol. 45, N 1. P. 43–47.
4. Occurrence of agglutinins and precipitins to motile *Aeromonas* strains in normal serum of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and their role in protection of the fish against these bacteria/ Kozińska Alicja // Bull. Vet. Inst. Pulawy. 2001. Vol. 45, N 2. P. 177–185.
5. Изучение иммунизации методом иммерсии бактерином рыб, больных бактериальной септициемией / Chen Yueying, Qian Dong, Shen Zhi-hua et al // Oceanol. et limnol. sin. 1998. Vol. 29, N 6. P. 597–603.
6. Vaccination of rainbow trout with non-adjuvanted and adjuvanted vaccines / Knappskog D. H., Maaseide N. P., Rødseth O. M. // 9<sup>th</sup> Int. Conf. «Diseases Fish and Shellfish», Rodes, 19–24 Sept., 1999: Book Abstr. Rodes. 1999. P. 254.
7. The use of vaccine VYS-2 for protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*) against experimental *Vibrio anguillarum* infection / Guseva N. V. // 9<sup>th</sup> Int. Conf. «Diseases Fish and Shellfish», Rodes, 19–24 Sept., 1999: Book Abstr. Rodes. 1999. P. 270.
8. Streptococcus iniae vaccine for prevention of streptococcus disease in Tilapia / Klesius Phillip H., Shoemaker Graig A., Evans Joyce J. // 9<sup>th</sup> Int. Conf. «Diseases Fish and Shellfish», Rodes, 19–24 Sept., 1999: Book Abstr. Rodes. 1999. P. 273.
9. Modified live *Flavobacterium columnare* against columnaris disease in fish: Пат. 6881412 США, МПК<sup>7</sup> А61К39/02, А61К39/12 / Shoemaker Graig A., Klesius Phillip H., Evans Joyce J.; USA Secretary of the Agriculture. № 10/020735; Заявл. 12.12.01; Опубл. 19.04.05; НПК 424/234.1.
10. Vaccine-associated granulomatous inflammation and melanin accumulation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., white muscle / Koppang E. O., Haugarvoll E., Hordvik I. et al. // J. Fish Diseases. 2005. Vol. 28, N 1. P. 13–22.
11. Оценка биопленок из *Aeromonas hydrophila* для оральной вакцинации / Zhang Jihong, Chu Wie-hua, Li Chengping // Zhoongguo shuichan Kexue = J. Fish. Sci. China. 2004. Vol. 11, N 5. P. 404–407.
12. Molecular tools for aquatic animal health: Past and Future perspectives / McIntosh Douglas // Bull. Aquacult. Assoc. Can. 2004. Vol. 104, N 2. P. 79–96.

R. L. ASADCHAYA

## VACCINES USED IN FISH FARMING

### Summary

The article presents the data on the use of vaccines in fish farming. The attempt to develop the substance with bacteria g. *Aeromonas* RNA for prophylaxis aeromonosis of fish in the fish farms of Belarus is described. Recombinant vaccine with bacteria g. *Aeromonas* strains from the fish farms will be developed.