

УДК 619: 616. 988. – 078. 639. 371. 13

ЕТИОЛОГІЯ ВІРУСНОЇ ГЕМОРАГІЧНОЇ СЕПТИЦЕМІЇ (ВГС) ЛОСОСЕВИХ РИБ ТА БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗБУДНИКА

Гайдей О.С., к.вет.н., olga.gaidei@gmail.com

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ

Анотація. У статті представлена інформація щодо будови вірусу геморагічної септицемії лососевих риб, особливостей генотипування вірусу, детальна характеристика різних типів ізолятів вірусу геморагічної септицемії риб.

Ключові слова: вірусна геморагічна септицемія, ВГС, райдужна форель, лососеві риби, генотипування, серотипування, ізоляти, геном, віріони, генотипові групи.

Актуальність проблеми. У Західній Європі у 80-х роках ХХ століття, після поширення спалахів захворювання геморагічною септицемією серед промислово важливих видів риб, було ізольовано та ідентифіковано етіологічний агент даного захворювання. Ним виявився абсолютно новий штам з родини рабдовірусів, який отримав назву – вірус геморагічної септицемії (ВГС, *Viral hemorrhagic septicemia virus*, VHSV). У літературних джерелах цей збудник часто згадується під назвою Егтвед вірус (*Egtved virus*), оскільки його вперше було ізольовано з матеріалу від райдужної форелі у місті Егтвед, Данія [1, 2, 5]. За низкою ознак у структурній та молекулярній організації вірусу, його було віднесено до нещодавно відокремленого роду *Novirhabdovirus*, родини *Rhabdoviridae*. Раніше даний вірус, через брак інформації стосовно особливостей його молекулярної будови та філогенетичних зв'язків, відносили до роду *Lyssavirus*, родини *Rhabdoviridae* [1, 5, 9].

Метою нашої роботи було проаналізувати літературні дані щодо будови вірусу геморагічної септицемії лососевих риб, особливостей генотипування вірусу, детальної характеристики різних типів ізолятів вірусу геморагічної септицемії риб.

Віріони вірусної геморагічної септицемії – великі за розміром, кулеподібної форми. Довжина віріону становить 180 нм, ширина близько 75 нм. Оболонка вірусу вкрита пепломерами, довжиною 5-15 нм, що рівномірно розташовані на відстані 3 нм один від одного, однак відсутні на квазіпласкій ділянці оболонки. Пепломери формуються з тримерів глікопротеїнів і утворюють колоподібні блоки [1, 4, 6, 8, 9]. Капсид вірусу видовжений зі спіральною симетрією. Він представлений комплексом нуклеопротеїну N та одноланцюгової РНК, а також ферментом РНК-залежною РНК-полімеразою L [3, 6, 7, 8]. Основними складовими віріону є нуклеокапсид з одноланцюговою РНК, структурні білки пеплосу G і M та білки рибонуклеопротеїнового комплексу N, P і L.

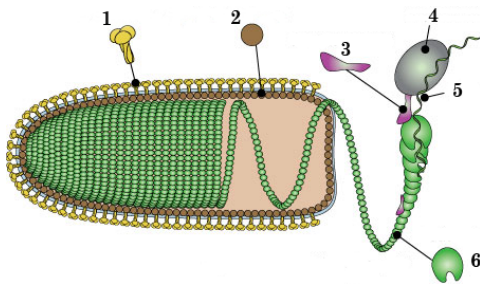


Рис. 1. Молекулярна організація віріону вірусу ВГС:

1 – поверхневий глікопротеїн G; 2 – матриксний білок M; 3 – фосфопропротеїн P; 4 – РНК-залежна РНК-полімераза L; 5 – одноланцюгова геномна РНК; 6 – нуклеопротеїн N.

Рибонуклеопротеїн містить геномну РНК, зв'язану з трьома внутрішніми білками: транскриптазою L, нуклеопротеїном N та фосфопропротеїном P [1, 5, 8]. Вищезгадані білки, разом із РНК, утворюють активний РНК-комплекс, що контролює як транскрипцію, так і реплікацію [8, 9]. До структурних білків належать матриксний білок M, розташований на внутрішній стороні оболонки вірусу та глікопротеїн G, що утворює поверхневі виступи (рис.1).

Біохімічні дослідження організації вірусу ВГС дозволили з'ясувати, що віріон складається з одноланцюгової геномної РНК і 5 білків, що характеризуються певними

посттрансляційними модифікаціями і виконують окремі, чітко визначені функції для забезпечення існування вірусу [4, 5, 8]. Так, трансмембранний глікопротеїн, що утворює поверхневі пепломери вірусу ВГС, є єдиною антигенною детермінантою [7, 9]. Зрілий G-білок складається з послідовності 487 амінокислот, а його молекулярна маса становить 56.804 кДа. Ендодомен виконує функції взаємодії з матриксним білком та внутрішньоклітинного транспорту глікопротеїну під час збирання віріонів [1, 5, 9]. Ектодомен відіграє основну роль у патогенезі хвороби шляхом забезпечення прикріплення віріонів до мембрани чутливих клітин та зв'язування з нейтралізуючими антитілами [3, 7, 8].

Нуклеопротеїн (N-білок) є головним внутрішнім білком вірусу ВГС, який у комплексі з іншими білками та РНК, утворює спіралеподібний рибонуклеокапсид [6, 8, 9]. Послідовність N-білку складається з 404 амінокислотних залишків, а молекулярна маса даного протеїну становить 44.066 кДа [4]. Під час морфогенезу вірусу N-білок зв'язаний з віріонною РНК, таким чином захищаючи її від дії рибонуклеаз. У зрілому віріоні N-протеїн, як головний компонент нуклеокапсиду, виконує функції інкапсидзації та захисту геному, а також бере участь у регуляції процесів транскрипції і реплікації. У випадку експресії N-протеїну без фосфопротеїну Р, зв'язування з РНК носить неспецифічний характер і, в такому разі, N-білок може зв'язувати свої власні мРНК [3, 5, 7, 9]. Взаємодія з фосфопротеїном Р виключає будь-яку можливість неспецифічного зв'язування і запобігає фосфорилуванню. Такий гомомультимерний комплекс N-Р білків специфічно інкапсидує геному РНК для зберігання і захисту від руйнування. Під час процесу реплікації визначальною є концентрація N-білку, оскільки синтез нових РНК відбувається лише за достатньої його кількості. Процес інкапсидзації новосинтезованих РНК відбувається паралельно процесу реплікації [8].

Фосфопротеїн (Р-білок) складається з 297 амінокислотних залишків і характеризується найвищим ступенем гомології у штамів вірусу ВГС (98-99%). Цей білок може бути представлений двома можливими формами, що відрізняються різним ступенем фосфорилування. Фосфопротеїн Р виконує функцію ініціації процесів транскрипції та реплікації РНК [3, 7].

Нефосфорильований матриксний білок (М-протеїн) утворює мембраноподібний шар, товщиною 2,5-3 нм, що прилягає до нуклеокапсиду. Згаданий білок складається з 202 амінокислотних залишків. Головною функцією М-протеїну є взаємодія з цитоплазматичним доменом G-білку та рибонуклеопротеїном під час збирання віріону, відбруньковуванні та вивільненні віріону в позаклітинний матрикс. М-білок, щільно вкриваючи рибонуклеокапсид, забезпечує специфічну конденсовану кулеподібну форму віріону. Крім того, великі концентрації новосинтезованого М-білку в клітині інгібують транскрипцію і стимулюють реплікацію. Під час відбруньковування віріонів М-білок локалізований на внутрішній стороні плазматичної мембрани інфікованої клітини [1, 6, 7].

РНК-залежна РНК-полімераза (L-протеїн) є найбільшим за масою білком вірусу, що складається з 2142 амінокислотних залишків і виконує функції синтезу, кепування, метилування та поліаденілювання РНК [3, 4].

У геномі ВГС також закодовано шостий, невеликий за розмірами невіріонний білок (NV-протеїн), що складається з 123 амінокислотних залишків, молекулярною масою 14.5 кДа. NV-білок експресується у різних концентраціях в інфікованих клітинах, але не виділяється з очищених віріонів. Спектр функцій згаданого білку і досі чітко не з'ясовано. Разом із тим наявність відкритої рамки зчитування свідчить про його значну біологічну роль [3, 5, 6, 8]. Нуклеотидна послідовність гена NV-білку характеризується значною варіабельністю серед штамів вірусу ВГС. Таким чином, доказано роль NV-білку в забезпеченні здатності вірусу ВГС інфікувати певні типи клітин та індукувати цитопатичний ефект в культурах чутливих клітин. Крім того, описано здатність згаданого білку до інактивації інтерферонів, що продукуються клітинами імунної системи інфікованого організму хазяїна [5].

Геном вірусу ВГС представлений молекулою одноланцюгової несеgmentованої (–)-РНК, довжиною близько 11200 н.п. (рис. 2). Геномна РНК містить відкриті рамки зчитування для 6 генів у послідовності 3'-N-P-M-G-Nv-L-5', де N–нуклеокапсидний білок, Р–фосфопротеїн, М–матриксний білок, G–глікопротеїн, NV–невіріонний протеїн, L–РНК-залежна РНК-полімераза [4].

Геном вірусу ВГС містить лідерну послідовність, довжиною 60 н.п., що передує старту транскрипції N-гену та трейлерну послідовність, довжиною 100 н.п., яка локалізована після термінатора транскрипції L-гену [3, 4, 7]. Гени розпочинаються з консервативної послідовності старту транскрипції 3'-CCGUG або сигнальної послідовності 3'-UUGU, що розташована перед початком сайту ініціації трансляції. Термінація транскрипції відбувається сигнальною послідовністю 3'-UCUGUC(U), а міжгенні регіони, що не транскриптуються, представлені послідовностями poly-G або poly-A [1, 3].



Рис. 2. Організація геному вірусу ВГС

Експресія генів розпочинається внаслідок приєднання РНК-залежної РНК-полімерази до лідерної послідовності інкапсидованої РНК. Послідовна транскрипція всіх генів відбувається під впливом сигнальних послідовностей. Матричні РНК кепуються і поліаденілюються полімеразою впродовж синтезу [5, 6, 8].

Цикл реплікації вірусу розпочинається після приєднання G-білків до рецепторів чутливих клітин із наступним проникненням шляхом ендоцитозу у везикулу клітини хазяїна. Злиття мембрани вірусу з мембраною везикули забезпечує потрапляння рибонуклеокапсидного комплексу до цитоплазми, де відбуваються: послідовна транскрипція, а також кепування і поліаденілювання 6 вірусних моноцистронних мРНК. Посттранскрипційний процесинг відсутній [2, 6, 8]. Власне реплікація вірусної РНК розпочинається тоді, коли є достатня кількість нуклеопротеїнів для інкапсидації новосинтезованих молекул геномної РНК. Новоутворені рибонуклеокапсиди взаємодіють з матриксними білками, що локалізовані під плазматичною мембраною, з утворенням М-білкової оболонки навколо них. Далі відбувається відбруньковування і вивільнення віріонів у позаклітинний матрикс [1, 5, 7].

Серотипування, генотипування та аналіз антигенних детермінант ВГС дозволили окреслити відмінності між ізолятами даного вірусу, виділеними в різних географічних зонах та від різних видів риб і охарактеризувати особливості будови їхнього геному та визначити вірулентність. Разом із тим розподіл ізолятів на окремі генотипи та субтипи в основному базується на географічному походженні [1, 5]. Наразі виділяють 4 генотипові групи, перша та четверта з яких підрозділені ще на 5 та 2 підгрупи, відповідно. Характеристику різних типів ізолятів вірусу геморагічної септицемії риб наведено у таблиці 1 [1, 2].

До першої генотипової групи ізолятів віднесені збудники, що викликають захворювання риб континентально-європейських водойм. Віруси зі згаданим генотипом патогенні для райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss*), а також щуки звичайної (*Esox lucius*), харіусу звичайного (*Thymallus thymallus*) та сига (*Coregonus spp.*) [2, 3, 8].

До другої генотипової групи відносять штами вірусу ВГС, поширені серед риб морських вод Європи, а саме Балтійського та Північного морів. Дані ізоляти виявляють значно менший рівень патогенності щодо райдужної форелі, проте спричиняють розвиток захворювання і високий рівень смертності серед калканових риб, а саме великого ромба (*Scophthalmus maximus*), а також деяких інших видів [3, 7].

До третьої генотипової групи належать штами вірусу, виділені від морських видів риб Західної Європи, що у своїй більшості викликають захворювання у тихоокеанського оселедця (*Clupea pallasii*), а також у тихоокеанського хека (*Merluccius productus*), сардин (*Sardinops sagax*) та минтаю (*Theragra chalcogramma*) [3, 5].

Четверту генотипову групу було відокремлено на підставі відмінностей між описаними штамами вірусу ВГС та ізолятами, виділеними від риб Берингового та Охотського морів. До цієї групи віднесено ізоляти, виділені від морських видів риб Північної Америки та ідентифіковані в 2007 році ізоляти від прісноводних риб, які поширені в регіоні Великих Озер [3, 4].

Наведені вище характеристики окремих генотипових груп ізолятів ВГС дозволяють стверджувати, що прослідковуються саме географічні особливості в типуванні виділених штамів вірусу. Виключення становлять ізоляти, виділені від японської палтусоподібної камбали (*Paralichthys olivaceus*) у північних водах Тихого океану і віднесені до II генотипової групи, хоча інші ізоляти вказаної групи поширені лише серед риб Балтійського моря [5].

Таблиця 1.

Типування штамів ВГС за генотиповими особливостями

Генотипова група	Основний хазяїн та місця поширення вірусу ВГС
I-a	Райдужна форель та деякі інші види прісноводних риб континентальних вод Європи
I-b	Риба Балтійського, Північного морів та проток, що їх з'єднують
I-c	Райдужна форель Данії
I-d	Райдужна форель Норвегії, Фінляндії, а також Балтійського заливу
I-e	Райдужна форель Грузії, а також свійський та дикий види чорноморського калкану
II	Риба Балтійського моря

III	Морські види риб Британії та Північної Франції, калкан Британії та Ірландії, чорний палтус (<i>Reinhardtius hippoglossoides</i>) Гренландії
IV-	Морські види риб Північної Америки, Японії та Кореї
a	
IV-	Прісноводні види риб Північної Америки регіону Великих озер
b	

Висновок

Таким чином, організація геному вірусу ВГС частково відображає загальні принципи геномної організації рибовірусів, хоча характеризується специфічними ознаками, притаманними лише даному вірусу.

З вищенаведеного матеріалу зрозуміло, що детальний філогенетичний аналіз ізолятів вірусу ВГС є необхідним для встановлення напрямків поширення вірусу або джерел виникнення нових типів ізолятів, з'ясування напрямку еволюції і пристосування даного вірусу надасть необхідну інформацію для боротьби зі згаданим збудником та розроблення методів запобігання спалахів захворювання у нових регіонах серед нечутливих до цього вірусу видів риб.

Література

1. Antychowicz J. Przypadek zakaznej matwicy układu krwiotwórczego i wirusowej posocznicy krwotocznej u wylegu pstrąga tęczowego – wprowadzenie metody RT-PCR do diagnostyki tych wirusów w Polsce. / Antychowicz J., Reichert M., Pekala A. – Medycyna Weterynarna, 2001. – Vol. 12, P. 894–898.
2. Antychowicz J. Survey and diagnosis of VHS and IPN in EU and some neighboring states in 2002. / Antychowicz J. – Seventh Annual Meeting of National Reference Laboratories for Fish Diseases, 2003. – Vol. 3, P. 150–163.
3. Betts A.M. Nucleotide sequence analysis of the entire coding regions of virulent and avirulent strains of viral haemorrhagic septicemia virus. / A.M. Betts, D.M. Stone – Virus Genes, 2000. – Vol. 20, P. 259–262.
4. Brudeseth B.E. Sequential pathology after experimental infection with marine viral haemorrhagic septicaemia virus isolates of low and high virulence in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) / Brudeseth B.E., Raynard R.S., King J.A. – Vet Pathology, 2005. – Vol. 42, P. 9–18.
5. Einer-Jensen K. Evolution of the fish rhabdovirus viral haemorrhagic septicaemia virus / Einer-Jensen K., Ahrens P., Forsberg R. – Journal of General Virology, 2004. – Vol. 85, P. 1167–1179.
6. Einer-Jensen K. Genotyping of the fish rhabdovirus, viral haemorrhagic septicaemia virus, by restriction fragment length polymorphisms / Einer-Jensen K., Winton J., Lorenzen N. – Veterinary Microbiology, 2005. – Vol. 106, P. 167–178.
7. Henryon M. Genetic variation for growth rate, feed conversion efficiency, and disease resistance exists within a farmed population of rainbow trout / Henryon M., Jokumsen A., Berg P. – Aquaculture, 2002. – Vol. 209, P.59–76.
8. Lopez-Vazquez C. Genotyping of marine viral haemorrhagic septicaemia virus isolated from the Flemish Cap by nucleotide sequence analysis and restriction fragment length polymorphism patterns / Lopez-Vazquez C., Raynard R.S., Bain N. – Diseases of Aquatic Organisms, 2006. – Vol. 73, P. 23–31.
9. Lorenzen N. Antibody response to VHS virus proteins in rainbow trout / Lorenzen N., Olesen N., Jorgensen P. – Fish and Shellfish Immunology, 1993. – Vol. 3, P. 461–473.

ЭТИОЛОГИЯ ВИРУСНОЙ ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ (ВГС) ЛОСОСЕВЫХ РЫБ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ

Гайдей О.С., к.вет.н.,

Государственный научно-исследовательский институт по лабораторной диагностике и ветеринарно-санитарной экспертизе, г. Киев

Аннотация. В статье представлена информация по строению вируса геморрагической септицемии лососевых рыб, особенностей генотипирования вируса, детальная характеристика различных типов изолятов вируса геморрагической септицемии рыб.

Ключевые слова: вирусная геморрагическая септицемия, ВГС, радужная форель, лососевые рыбы, генотипирование, серотипирование, изоляты, геном, вирионы, генотипы.

ETIOLOGY OF VIRAL HAEMORRHAGIC SEPTICEMIA VIRUS (VHS) OF SALMONS AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PATHOGEN

Gaydey O.S., PhD

State Research Institute for laboratory diagnostics and veterinary-sanitary expertise, Kyiv

Summary. The article provides information on the structure of the viral haemorrhagic septicemia of salmon fish, especially genotyping of the virus, a detailed description of the different types of virus isolates.

Key words: viral haemorrhagic septicemia, VHS, rainbow trout, salmon, genotyping, serotyping, isolates, genom, virions, genogroup.

УДК 636.09:615.371:578.824

АНТИРАБИЧЕСКИЕ ВАКЦИНЫ: РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ ОБЗОР

**Гарагуля Г.И., к. вет. н, доцент,
Матковская С.Г., к. вет. н., доцент,**

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков

Гаркавая В.В., ст. преподаватель

Сумской национальной аграрный университет, г. Сумы

Аннотация. В статье проанализированы направления разработки и усовершенствования антирабических вакцин. Описаны группы вакцин в зависимости от методики их получения, дана краткая характеристика свойств живых, инактивированных, рекомбинантных и пероральных препаратов для профилактики бешенства у животных.

Ключевые слова: антирабические вакцины, виды, история

Актуальность проблемы. По данным МЭБ и ВОЗ бешенство является одной из самых важных причин гибели людей в категории инфекционных заболеваний. Бешенство – общая проблема гуманной и ветеринарной медицины. В основе ее решения лежит, прежде всего, разработка высокоэффективных антирабических вакцин и правильная согласованная тактика их применения [19].

Цель исследований – изучить направления поиска при создании антирабических вакцин для животных и человека.

Результаты исследований. На протяжении всей истории создания антирабических вакцин наиболее важными были требования безвредности и иммунологической эффективности, которые соблюдаются при конструировании любой из них до сих пор [5, 17].

Историю создания антирабических вакцин можно условно разделить на несколько периодов [1, 4, 17, 18]:

- первый – с 1885 до 1948г., когда вакцины готовили из мозга взрослых животных (кролики, овцы, козы), инфицированных фиксированным вирусом бешенства; такие вакцины называют тканевыми (мозговыми), или вакцины на основе нервных тканей животных (НТЖ);
- второй – с 1949 до 1955гг., когда готовили живые аттенуированные вакцины, полученные на эмбрионах птицы (их называют эмбриональными, эмбрионвакцинами или авианизированными вакцинами);
- третий – с 1956 до 1982 года – живые или инактивированные вакцины готовили из штаммов вируса бешенства, адаптированных к культурам клеток, вакцины этого типа называют культуральными антирабическими вакцинами, или КАВ;
- началом четвертого (современного) периода считают 1982 год, когда впервые была получена рекомбинантная вакцина, содержащая ген вируса бешенства, ответственный за синтез поверхностного гликопротеина G, а также созданы субъединичные и ДНК-вакцины.

На современном этапе антирабические вакцины классифицируют по принципу изготовления и механизму действия на такие группы: цельновирионные (живые и инактивированные), субъединичные, рекомбинантные и ДНК-вакцины. По способу консервирования различают жидкие и лиофилизированные вакцины.

При иммунизации домашних и сельскохозяйственных животных предпочтение отдают **инактивированным вакцинам**, которые характеризуются безопасностью и высокой иммуногенностью [1, 4, 5, 6, 17].