



ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ,
ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ
И ТОКСИКОЛОГИЯ

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY,
PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY
AND TOXICOLOGY

УДК 639.3.09

DOI:10.31677/2311-0651-2024-44-2-55-62

**ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ВЕТОМ 3.22
ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ СЕРЕБРЯНЫХ КАРАСЕЙ ГЕРПЕСВИРУСОМ КАРПОВЫХ
2 ТИПА (CyHV-2)**

¹А.В. Морозко, ведущий специалист

²Я.А. Уткин, старший лаборант-исследователь

³Е.А. Вялкова, студент

¹Е.А. Интересова, доктор биологических наук

¹Новосибирский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ЗапСибНИРО»)

²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

³Новосибирский государственный аграрный университет

E-mail: nagayka.88@mail.ru

Ключевые слова: герпесвирус, применение препарата, Ветом 3.22, серебряный карась, пробиотик, показатели крови, иммунный ответ.

Реферат. Показано действие пробиотического препарата Ветом 3.22 на организм карасей серебряных при применении его в качестве добавки к корму на фоне острого течения вируса герпеса карповых рыб 2 типа (CyHV-2). Диагностика данного заболевания до момента проявления характерных клинических признаков затруднена, а специфичного лечения не разработано, поэтому используется терапия, поддерживающая иммунитет. Оценка физиологического состояния серебряных карасей в ходе эксперимента проводилась по результатам гематологического анализа. В качестве контрольной группы были отобраны особи, не заражённые указанным вирусом. Результаты исследований показали, что препарат Ветом 3.22 благоприятно влияет на организм рыб: иммунный ответ на заболевание вирусом герпеса карповых рыб 2 типа (CyHV-2) повышается за счет улучшения процесса лейкопоэза, обмен веществ стимулируется за счет роста числа эритроцитов. Препарат можно успешно применять в качестве биологически активной добавки к кормам, в том числе как вспомогательное средство при лечении рыб от заболеваний, для которых не разработаны медикаментозные меры. Однако следует учитывать, что препарат Ветом 3.22 не является лечебным средством, поэтому при серьёзных заболеваниях рыб, помимо него, требуется применение специализированных препаратов. Полученные результаты могут быть использованы для подготовки практических рекомендаций по мерам борьбы с острым течением CyHV-2 в аквакультуре.

**APPLICATION OF PROBIOTIC PREPARATION VETOM 3.22 IN DISEASE OF GIRL
CROSS WITH HERPES VIRUS TYPE 2 (CYHV-2)**

¹A.V. Morozko, Leading Specialist

²Ya.A. Utkin, Senior Research Assistant

³E.A. Vyalkova, Student

¹E.A. Interesova, Doctor of Biological Sciences

¹Novosibirsk branch of the Federal State Budgetary Institution "VNIRO" ("ZapSibNIRO")

²Institute of Cytology and Genetics SB RAS

³Novosibirsk State Agrarian University

Keywords: herpes virus, use of the drug, Vetom 3.22, silverfish, probiotic, blood counts, immunity.

Abstract. *The effect of the probiotic drug Vetom 3.22 on the body of silver crucian carp when used as a feed additive against the background of an acute course of the cyprinid herpes virus type 2 (CyHV-2) was shown. Diagnosis of this disease before the manifestation of characteristic clinical signs is difficult, and specific treatment has not been developed, so therapy that supports immunity is used. The physiological state of goldfish during the experiment was assessed based on the results of hematological analysis. Individuals not infected with the specified virus were selected as a control group. Research results have shown that Vetom 3.22 has a beneficial effect on the fish body: the immune response to the disease with cyprinid herpes virus type 2 (CyHV-2) is increased by improving the process of leukopoiesis, metabolism is stimulated by an increase in the number of red blood cells. The drug can be successfully used as a biologically active additive to feed, including as an adjunct in the treatment of fish for diseases for which no drug measures have been developed. However, it should be taken into account that the drug Vetom 3.22 is not a therapeutic agent, therefore, in case of serious fish diseases, in addition to it, the use of specialized drugs is required. The results obtained can be used to prepare practical recommendations on measures to combat acute disease in aquaculture.*

Лечение вирусных заболеваний у рыб затруднено как в техническом, так и в ветеринарном смысле. Это связано с рядом проблем: малой изученностью вирусов рыб, трудностями в диагностике, отсутствием вакцин, а также сложностью самого процесса вакцинирования.

Тем не менее существует ряд достаточно распространённых вирусов рыб, которые наносят ущерб рыбному хозяйству. Одним из таких вирусов считается герпес карповых рыб (CyHV), вызывающий такое заболевание, как оспа карпа. Оспа поражает карпов, сазанов и их гибридов, реже – леща, плотву, язя, карася и других карповых [2].

В 2023 году в Новосибирской области наблюдалось длинное и жаркое для Западной Сибири лето. Это спровоцировало развитие различных заболеваний у рыб, в том числе в ряде водоёмов (как природных, так и искусственных) регистрировался вирус герпеса карповых рыб у карасей серебряных. Генетический анализ подтвердил у отобранных для исследования особей заболевание герпесвирусом карповых 2 типа.

Первоначально инфекция CyHV-2 была ошибочно идентифицирована как герпесвирусный гемопоэтический некроз (HVHN) у декоративных золотых рыбок, вызвавший их высокую смертность в Японии в 1995 году [13]. CyHV-2 является представителем рода Cyprinivirus семейства Alloherpesviridae. Род Cyprinivirus включает в себя вирусы, поражающие карпа (герпесвирусы карповых 1 и 3 типов; CyHV-1 и CyHV-3), золотую рыбку и карася (герпесвирус карповых 2 типа или CyHV-2) и пресноводного угря (герпесвирус Anguillid 1; AngHV-1) (ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses), 2021). Подобно другим герпесвирусам, CyHV-2 может оставаться покоящимся и неинфекционным в течение длительного периода, но реактивироваться и вызвать продуктивное заражение хозяина при стрессовых ситуациях, таких, например, как изменения параметров воды [12].

Проявляется герпесвирус в виде доброкачественной опухоли (папилломы), которая формируется за счет гиперплазии и разрастания недифференцированных эпителиальных клеток эпидермиса кожи. Внутри папиллом часто развивается очаговый некроз тканей с образованием пустот. Опухолевые наросты четко ограничены, имеют плотную парафиноподобную консистенцию [2] (рис. 1). При проявлении заболевания в острой форме рыбы не выживают, но особи с хронической формой заболевания могут достаточно долго жить и оставаться безопасными для употребления в пищу.



Рис. 1. Серебряный карась, поражённый вирусом герпеса карповых рыб в острой форме

Fig. 1. Silver carp infected with the herpes virus of cyprinid fish in acute form

Механизм реактивации герпесвирусов до конца не изучен, однако считается, что состояние иммунитета хозяина играет важную роль в поддержании баланса между персистенцией или латентностью вируса и его реактивацией [12]. Вирус размножается и собирается в гемопоэтических клетках селезенки и почек, а также в жабрах инфицированных рыб [15]. Диагностика данного заболевания до момента проявления характерных клинических признаков затруднена, а специфичного лечения не разработано, поэтому используется терапия поддерживающая иммунитет. Наиболее распространено применение различных пищевых добавок (витаминов, кальциевых подкормок, пре- и пробиотиков) [3, 4, 10, 11]. Различные виды препаратов Ветом применяются в качестве дополнительного источника пробиотических микроорганизмов для оздоровления сельскохозяйственных животных и рыб [5, 6, 9]. Оздоровительный эффект Ветом 3.22 обеспечивается свойствами бактерий *Bacillus amyloliquefaciens*, которые, размножаясь преимущественно в толстом отделе кишечника, выделяют биологически активные вещества, подавляющие рост и развитие патогенной и условно-патогенной микрофлоры. При этом препарат Ветом 3.22 достаточно удобен для применения в рыбном хозяйстве, так как представляет собой жидкость, что позволяет вносить его в кормосмесь в нужных дозировках.

Целью работы авторы ставили выявление эффекта, который оказывает пробиотический препарат Ветом 3.22 при заболевании серебряных карасей вирусом герпеса.

Основу препарата Ветом 3.22 составляет кукурузный экстракт, ферментированный бактериями *Bacillus amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10642 (DSM 24614). Показано, что при применении Ветом 3.22 микробный состав кишечника трансформируется до соответствующего эволюционно сложившейся норме, его стенки очищаются от неперевариваемых остатков пищи. Это способствует активному выводу токсинов из организма, беспрепятственной доставке биологически активных и питательных веществ. Под воздействием Ветом 3.22 нормализуются: процессы пищеварения, кислотность среды в желудочно-кишечном тракте, всасывание и метаболизм железа, кальция, жиров, белков, углеводов, триглицеридов, аминокислот, дипептидов, сахаров, солей желчных кислот.

Исследованное заболевание было зарегистрировано у серебряных карасей из прудового хозяйства. Исследования проводились на рыбах из двух прудов: в одном у рыб было зафиксировано заражение вирусом герпеса (опытная группа), во втором вирус герпеса у рыб отсутствовал (контрольная). Так как первоначальная диагностика затруднена, и выявить заболевание можно только при наличии клинических признаков, то для изучения использовали рыбу из пруда, где уже регистрировались особи с острой формой заболевания (рис. 1), при этом для исследований были отобраны особи без внешних проявлений герпесвируса. Исследование проводилось на серебряных карасях, которым в корм добавляли Ветом 3.22 из расчета 30 мг на 1 кг корма. Применение препарата проводили в два курса по следующей схеме: 7 дней кормление препаратом, перерыв 5 дней, 7 дней кормления препаратом. Предварительно у рыб были проведены ихтиопатологические исследования по стандартным методикам для исключения паразитарного влияния на организм [1], а также генетические исследования тканей для подтверждения видовой принадлежности вируса.

Оценку физиологического состояния исследованных рыб проводили по результатам гематологического анализа, кровь отбирали из сердца пастеровской пипеткой [8]. Забор крови для анализов производился три раза:

- 1) перед началом применения пробиотика;
- 2) после 1-го курса получения пробиотического препарата;
- 3) после прохождения 2-го курса получения препарата.

Гематологический анализ включал определение следующих показателей:

- количество эритроцитов – пробирочным методом с подсчётом в камере Горяева;
- количество лейкоцитов – четырёхпольным методом по Шиллингу.

Поскольку для исследования были отобраны особи либо не заражённые вирусом герпеса, либо с вирусом герпеса в стадии покоя, т. е. с условным отсутствием воспалительного процесса, то дифференциацию разных стадий зрелости форменных элементов крови не производили. Для идентификации форменных элементов использовали классификацию Н.Т. Ивановой [4].

Чтобы нейтрализовать эффект возрастных изменений, для исследований отбирались только взрослые особи (половозрелые, в возрасте более 3-х лет).

Статистический анализ полученных данных проводили при помощи пакета программ Past 4, для проверки полученных результатов использовали критерий Фишера.

В течение всего периода исследований проводилось паразитологическое вскрытие отбираемых для анализа рыб. Паразитов у исследованных особей не зарегистрировано. Средние значения гематологических показателей рыб во время проведения исследований представлены на рисунках 2 и 3.

Анализ физиологического состояния рыб до введения препарата Ветом 3.22 в их рацион показал, что в обеих исследованных группах наблюдались низкие показатели количества эритроцитов и лейкоцитов. Введение пробиотика в корм начали через двое суток после генетического подтверждения вирусного заболевания.

После проведения первого курса применения Ветом 3.22 анализ препарата крови показал значительное увеличение количества эритроцитов (как в контрольной, так и в опытной группе) и количества лейкоцитов у рыб, заражённых вирусом герпеса. У рыб из контрольной группы количество лейкоцитов тоже увеличилось, но по сравнению с опытной группой не настолько выражено.

Второй курс применения препарата был осуществлён после пятидневного перерыва. По завершению курса исследование крови показало, что количество эритроцитов в обеих группах осталось на высоком уровне. Количество лейкоцитов в опытной группе упало до показателей нормы, в контрольной группе количество лейкоцитов незначительно увеличилось, но также оставаясь в пределах нормы.

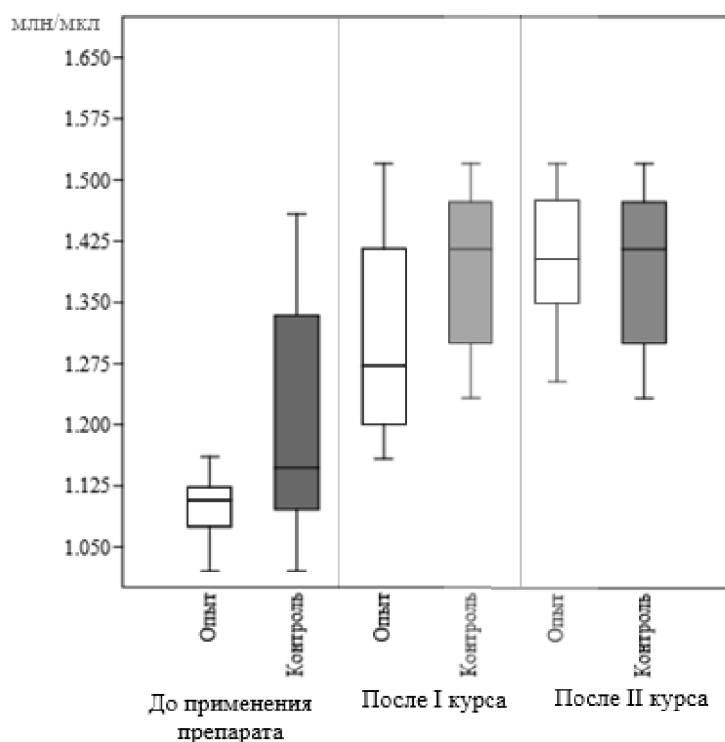


Рис. 2. Показатели количественного анализа эритроцитов (млн/мкл) карася серебряного во время проведения исследований
Fig. 2. Indicators of quantitative analysis of erythrocytes (million/ μ l) of silver carp during the research

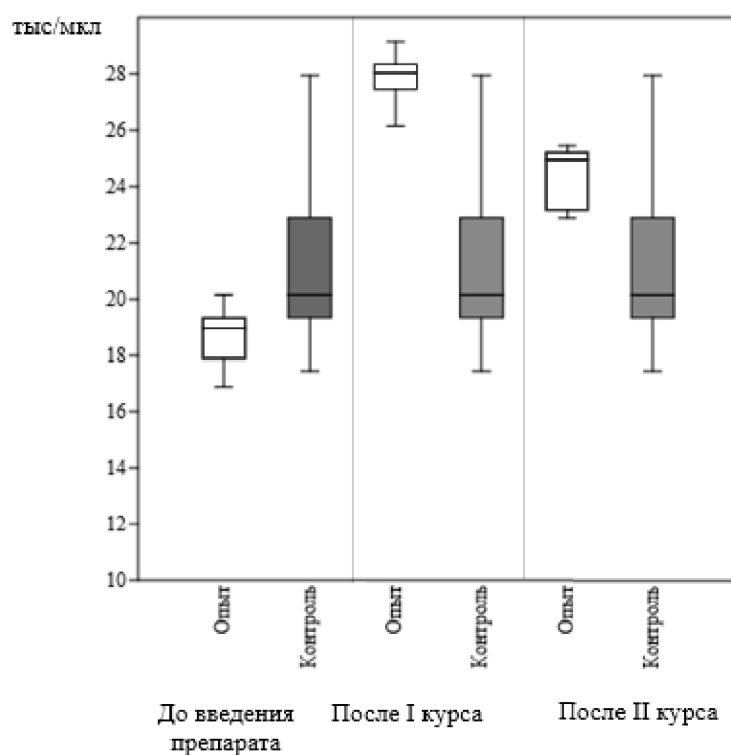


Рис. 3. Показатели количественного анализа лейкоцитов (тыс./мкл) карася серебряного во время проведения исследований
Fig. 3. Indicators of quantitative analysis of leukocytes (thousand/ μ l) of silver carp during the research

Исходя из полученных результатов, можно констатировать положительное влияние пробиотического препарата Ветом 3.22 на физиологическое состояние рыб как заражённых вирусом герпеса, так и не заражённых. Основная функция эритроцитов – перенос кислорода и питательных веществ. Они регулируют кислотно-щелочное равновесие, принимают участие в ряде ферментативных процессов и выведении продуктов распада из организма. Увеличение количества эритроцитов ведет к улучшению физиологического состояния организма.

Изменение количества лейкоцитов у опытной группы говорит о том, что применение препарата стимулировало иммунный ответ заражённых рыб на вирус герпеса. А незначительное повышение лейкоцитов в контрольной группе показывает общее повышение иммунитета. Все эти показатели свидетельствуют о том, что препарат стимулировал лейкопоз как у заражённых рыб, так и у здоровых рыб.

Проведённый дисперсионный анализ (см. табл.) показал, что по всем показателям количества форменных элементов наблюдаются статистически значимые различия ($P \leq 0,05$).

Таблица

Показатели достоверности изменения количества форменных элементов у обеих исследованных групп за три периода

Reliability indicators of changes in the number of shaped elements in both groups studied over three periods

Форменный элемент	Исследованная группа	Значение критерия Фишера (F)	Уровень статистической значимости (p)
Эритроциты	Опытная	35,2	0,0001
	Контрольная	22,5	0,0003
Лейкоциты	Опытная	198,8	0,0001
	Контрольная	37,1	0,0002

Помимо улучшения физиологического состояния у рыб наблюдалось повышение аппетита и активности в течение светового дня. Применение препарата стимулировало лейкопоз (увеличение в периферической крови лимфоцитов, ответственных за формирование специфического и неспецифического иммунитета), а также увеличение количества гемоглобина (рост количества эритроцитов). Таким образом, на фоне общего физического состояния серебряных карасей из двух групп можно утверждать, что применение Ветом 3.22 повысило иммунитет у исследованных рыб.

По результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

1. Препарат Ветом 3.22 благоприятно влияет на физиологическое состояние рыб: повышается иммунный ответ на заболевание вирусом герпеса карповых рыб 2 типа (CyHV-2) за счет улучшения процесса лейкопоза, стимулируется обмен веществ за счет роста числа эритроцитов.

2. Ветом 3.22 можно успешно применять в качестве биологически активной добавки к кормам, в том числе как вспомогательное средство при лечении рыб от заболеваний, для которых не разработаны медикаментозные меры. Однако препарат Ветом 3.22 не является лечебным средством, поэтому следует учитывать, что при серьёзных заболеваниях рыб требуется применение специализированных препаратов.

3. Полученные результаты будут использованы авторами для подготовки практических рекомендаций по мерам борьбы с острым течением вируса герпеса карповых рыб 2 типа (CyHV-2) в аквакультуре.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Быховская-Павловская И.Е. Паразитологическое исследование рыб. – М.-Л.: изд. АН СССР, 1952. – 63 с.

2. Грищенко Л.И., Елеев Э.Л. Герпесвирусные болезни рыб: распространение, течение, диагностика и профилактика // Российский ветеринарный журнал. – 2018. – № 1. – С. 22–28.
3. Граевская Ю. А., Васильев В. Ю. Биохимические показатели крови карпа при использовании в рационе пробиотика // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2014. – № 4. – С. 91–93.
4. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. – М.: Легкая и пищевая промышленность. – 1983. – 184 с.
5. Кантор К. Бакто-Хелс: для лечения ценных видов рыб // Наука и инновации. – 2020. – № 3 (205). – С. 29–30.
6. Нечаева Т.А. Применение пробиотика Ветом 1.1 при выращивании молоди форели в установках с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ) // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2014. – № 1 (21). – С. 65–69.
7. Налепова М.Ю., Трапезников С.В. Применение пробиотического препарата Ветом-1. 23 в ветеринарии для санации и аэрозольной подачи животным // Известия ОГАУ. – 2006. – № 12-1. – С. 24–25.
8. Методические указания по проведению гематологического обследования рыб. 1999. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. Ч. 2. – М.: Отдел маркетинга АМБ-агро. – 234 с.
9. Опыт применения препаратов Ветом в промышленном рыбоводстве / Н. Н. Репина, Т. А. Нечаева, А. Д. Соколов // сб. ст. науч. конф. «Садковое рыбоводство. Технология выращивания. Кормление рыб и сохранение их здоровья». Петрозаводск, 2008. – С. 85–88.
10. Применение препаратов «Левофлоксацин» и «СУБ-ПРО» при терапии бактериальной геморрагической септицемии у карповых рыб / Н.Н. Романова, Л.Н. Юхименко, В.В. Вараксина [и др.] // Труды ВНИРО. – 2022. – Т. 190. – С. 116–124.
11. Шульга Е.А., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А. Лечебные свойства пробиотика «Субтилис» при репарации кожных покровов осетровых рыб // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. – 2009. – № 1. – С. 86–88.
12. Chang Wei, Taichi Kakazu, Qiu Yuan Chuah, Mikio Tanaka, Goshi Kato, Motohiko Sano, Reactivation of cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2) in asymptomatic surviving goldfish *Carassius auratus* (L.) under immunosuppression // Fish & Shellfish Immunology. – 2020. – Vol. 103. – P. 302–309.
13. Jung S.J., Miyazaki T. Herpesviral haematopoietic necrosis of goldfish, *Carassius auratus* (L.) // Journal of fish diseases. – 1995. – Vol. 18, Iss. 3. – P. 211 – 220.
14. Ting Wu, Zhengfeng Ding, Meng Ren, Liang An, Zhengyun Xiao, Peng Liu, Wei Gu, Qingguo Meng, Wen Wang, The histo- and ultra-pathological studies on a fatal disease of Prussian carp (*Carassius gibelio*) in mainland China associated with cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2) // Aquaculture. – 2013. – Vol. 412–413. – P. 8–13.

REFERENCES

1. Byhovskaja-Pavlovskaja I.E. *Parazitologicheskoe issledovanie ryb* (Parasitological examination of fish), Moscow-Leningrad: izd. AN SSSR, 1952, 63 p.
2. Grishhenko L.I., Eleev Je.L., *Rossiiskij veterinarnyj zhurnal*, 2018, No. 1, pp. 22–28. (In Russ.)
3. Graevskaja Ju.A., Vasil'ev V.Ju., *Uchenye zapiski KGAVM im. N.Je. Baumana*, 2014, No. 4, pp. 91–93. (In Russ.)
4. Ivanova N.T. *Atlas kletok krovi ryb* (Atlas of fish blood cells), Moscow: Legkaja i pishhh. prom-t', 1983, 184 p.
5. Kantor K. *Nauka i innovacii*, 2020, No. 3 (205), pp. 29–30. (In Russ.)
6. Nechaeva T.A. *Aktual'nye voprosy veterinarnoj biologii*, 2014, No. 1 (21), pp. 65–69. (In Russ.)
7. Nalepova M.Ju., Trapeznikov S.V., *Izvestija OGAU*, 2006, No. 12-1, pp. 24-25. (In Russ.)
8. *Metodicheskie ukazaniya po provedeniju gematologicheskogo obsledovanija ryb. 1999. Sbornik instrukcij po bor'be s boleznyami ryb. Ch. 2* (Methodological guidelines for the hematological examination of fish. 1999. Collection of instructions on combating fish diseases. Part 2), Moscow: Otdel marketinga AMB-agro. 234 sp.
9. Repina N.N., Nechaeva T.A., Sokolov A.D., *Sadkovoe rybovodstvo. Tehnologija vyrashhivaniya. Kormlenie ryb i sohranenie ih zdorov'ja*, Collection of Articles of the Scientific Conference, Petrozavodsk, 2008, pp. 85–88. (In Russ.)

10. Romanova N.N., Juhimenko L.N., Varaksina V.V., Tokareva S.B., Safronova A.S., Sehina O.V., *Trudy VNIRO*, 2022, Vol. 190, pp. 116–124. (In Russ.)
11. Shul'ga E.A., Grozesku Ju.N., Bahareva A.A., *Vestnik AGTU. Serija: Rybnoe hozjajstvo*, 2009, No. 1, pp. 86–88. (In Russ.)
12. Chang Wei, Taichi Kakazu, Qiu Yuan Chuah, Mikio Tanaka, Goshi Kato, Motohiko Sano, Reactivation of cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2) in asymptomatic surviving goldfish *Carassius auratus* (L.) under immunosuppression, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 103, 2020, P. 302–309.
13. Jung S.J., Miyazaki T. Herpesviral haematopoietic necrosis of goldfish, *Carassius auratus* (L.), *Jornal of fish diseases*, 1995, Vol. 18, Iss. 3, P. 211–220.
14. Ting Wu, Zhengfeng Ding, Meng Ren, Liang An, Zhengyun Xiao, Peng Liu, Wei Gu, Qingguo Meng, Wen Wang, The histo- and ultra-pathological studies on a fatal disease of Prussian carp (*Carassius gibelio*) in mainland China associated with cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2), *Aquaculture*, 2013, Vol. 412–413, P. 8–13.