

ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 597-11:612.017.1:639.371.52:597-12

Стан Т- і В-клітинної ланок імунітету коропів, уражених аеромонозом, та за лікування препаратом Ентеронормін

Солопова Х.Я.^{id}, Віщур О.І.*^{id}

*науковий керівник

Інститут біології тварин НААН

 Солопова Х.Я., E-mail: khrystyna.solopova@gmail.com



Солопова Х.Я., Віщур О.І. Стан Т- і В-клітинної ланок імунітету коропів, уражених аеромонозом, та за лікування препаратом Ентеронормін. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С.40–46.

Solopova H.Ja., Vishhur O.I. Stan T- i V-klitinnoi' lanok imunitetu koropiv, urazhenykh aeromonozom, ta za likuvannja preparatom Enteronormin. Naukovyj visnyk veterynar-noi' medycyny, 2020. № 1. PP. 40–46.

Рукопис отримано: 01.11.2019р.

Прийнято: 05.12.2019р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-40-46

Інфекційні хвороби бактеріальної природи становлять значну проблему для аквакультури, часто призводять до масової загибелі риб та значних економічних збитків. Для лікування хворих риб застосовують антибактерійні препарати: нітрофурани, антибіотики, кормові антибіотики, а також барвники. З огляду на це, актуальним є пошук ефективних препаратів для профілактики та лікування, а також вивчення їх впливу на стан захисних систем організму риб. На сьогодні, з метою підвищення приростів тварин і для захисту від патогенних мікроорганізмів, як альтернативу пропонують різні групи речовин, в тому числі й пробіотики. Наведено результати досліджень впливу синбіотичного препарату Ентеронормін на показники, які характеризують стан Т- і В-клітинної ланок імунітету коропів, уражених бактерійним аеромонозом. Ентеронормін – синбіотичний препарат нового покоління, що складається з комплексу бактерій – *Enterococcus spp.*, *Bacillus subtilis spp.*, *Lactobacillus spp.*; та допоміжних речовин – хітозану, пептону ферментативного і меленого цукру (РП № ВВ-00427-02-12 від 13.04.2012). Дослідження проводили в умовах акваріумів на Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН. Контрольна група, яку становили клінічно здорові риби, отримувала лише 3 % крохмальну суспензію, перша дослідна група (Д1) – хворі на аеромоноз коропи, яким задавали лише 3 % крохмальну суспензію, другій дослідній групі (Д2), яку складали хворі на аеромоноз коропи, через зонд упродовж 7 діб задавали препарат Ентеронормін, з розрахунку 2 мг на 1 кг маси риби, у складі 3 % крохмальної суспензії. Перед введенням коропа досліджуваній препарат активували 14–16 год водою, збагаченою іонами біологічно активного йоду та селену у формі «Йодіс+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011).

Встановлено, що захворювання коропів на аеромоноз призводить до зміни кількості та функціональної активності імункомпетентних клітин крові. Констатовано пригнічення лімфоцитогенезу та функціональної активності імункомпетентних клітин у крові коропів при захворюванні на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу.

Застосування коропа дослідної групи у складі 3 % крохмальної суспензії препарату Ентеронормін справляло нормалізуючий вплив на стан Т-клітинної ланки специфічного захисту, проте істотно не вплинуло на кількість ЕАС-РУЛ і їх функціональну активність.

Ключові слова: риби, короп, аеромоноз, пробіотики, Ентеронормін, Т-лімфоцити, В-лімфоцити.

Постановка проблеми. Аеромонози – інфекційні хвороби риб бактеріальної природи, що характеризуються септичним процесом, наявністю геморагій на поверхневих покриттях, утворенням виразок чи фурункул [3]. Для лікування хворих риб застосовують антибактерійні

препарати: нітрофурани, антибіотики, кормові антибіотики, а також барвники [17].

Незважаючи на значні переваги антибіотиків, сьогодні вважають, що надмірне використання будь-яких антибіотичних речовин упродовж певного періоду може призвести до

появи локальної популяції бактерій, стійкої до їх дії. Щоб знизити ризик появи антибіотико-резистентних штамів бактерій, використання антимікробних препаратів має бути обмежене, і застосовуватись виключно за призначенням лікаря ветеринарної медицини та під його наглядом [6].

На сьогодні, з метою підвищення приростів тварин і для захисту від патогенних мікроорганізмів, як альтернативу пропонують: кормові ферменти; продукти «конкурентного виключення»; пробіотики; пребіотики; органічні кислоти (підкислювачі); фітогенні речовини [6].

Одним із шляхів вдосконалення технологій вирощування і розведення риб, підтримки нормального фізіологічного статусу є застосування пробіотичних мікроорганізмів. Культури, що входять до їх складу можуть продукувати різні активні речовини, утилізувати шкідливі продукти обміну, справляти антагоністичний вплив на патогенні мікроорганізми. Водночас застосування пробіотиків впливає на клітинний і біохімічний склад крові [8].

З огляду на це, значне наукове і практичне зацікавлення становить вивчення впливу різних пробіотичних препаратів, які можна застосовувати як для лікування, так і профілактики інфекційних хвороб у риб. У світовій практиці накопичений значний досвід щодо підвищення антибактеріальної резистентності риб і підтримки високих темпів зростання за допомогою пробіотиків і вакцин. Як у нашій країні, так і за кордоном ведуться роботи з адаптації в аквакультури пробіотичних препаратів, створених спочатку для теплокровних тварин [5, 13].

Ентеронормін – пробіотичний препарат, що складається з комплексу бактерій – *Enterococcus spp.*, *Bacillus subtilis spp.*, *Lactobacillus spp.*; та допоміжних речовин – хітозану, пептону ферментативного і меленого цукру. Він проявляє антагоністичну активність до широкого спектру патогенних бактерій і грибів. Формуючи нормальну мікрофлору, тим самим нормалізує секреторний імунітет, обмін речовин, стабілізує захисні сили організму, збільшує продуктивність тварин, птиці, бджіл і риб, їх збереженість, зменшує витрати кормів на одиницю приросту живої ваги [1, 18]. Препарат не має кумулятивної здатності, не потребує захисних засобів в умовах виробництва і застосування, та не зумовлює забруднення навколишнього середовища.

При захворюванні риб слід розрізняти не лише патологічні прояви, а й захисні реакції організму. До них відносять запалення, в осередку якого затримуються й руйнуються мікро-

би та інші хвороботворні агенти; вироблення імунітету в риб за інфекційних та інвазійних хвороб; достатньо швидке загоєння травматичних пошкоджень і ран у риб; регенерація, гіпертрофія та гіперплазія.

Основну роль у забезпеченні захисту організму риб від патогенної дії мікроорганізмів відіграють Т- і В-лімфоцити, які розпізнають і знешкоджують їх [4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Імунна система у риб, як і у вищих хребетних, забезпечує саморегуляцію за допомогою безпосереднього контакту клітин (макрофагів, нейтрофілів, цитотоксичних Т-лімфоцитів), а також за допомогою гуморальних факторів (лізоциму, комплементу) [2].

Специфічний імунітет забезпечується насамперед Т-лімфоцитами, що здійснюють реакцію клітинного імунітету, відповідальні за сталість внутрішнього середовища, гіперчутливість уповільненого типу. В-лімфоцити відповідальні за реалізацію гуморальної імунної відповіді з продукуванням антитіл, тобто є попередниками клітин, що утворюють антитіла. Т-система контролює роботу В-системи. Обидві популяції клітин циркулюють в організмі у складі клітин периферичної крові і, кооперуючись, здійснюють імунну відповідь у разі дії антигену [17].

Нині ефективним методом компенсації несприятливого впливу зовнішніх чинників на риб в аквакультурі є застосування пробіотиків – живих мікроорганізмів, які підвищують імунітет, беруть активну участь в процесах травлення, сприяють поліпшенню мікрофлори [5]. Застосування пробіотиків у рибних господарствах різного типу дозволило значно скоротити використання антибіотиків, покращити імунофізіологічний статус риб та епізоотологічну ситуацію на водоймах і отримати екологічно чисту продукцію [13, 15, 16].

Доведений позитивний вплив на якість, морфологічний та хімічний склад м'яса риби за лікування її від аеромонозу із застосуванням комплексу антибактеріальних препаратів та пробіотика [10]. Також відомі дослідження, що підтверджують позитивний вплив пробіотика на біологічну цінність м'яса риб, за додавання його з антибактеріальним лікуванням за аеромонозу короїв [9].

Мета дослідження – вивчення показників, які характеризують стан Т- і В-клітинної ланки імунітету короїв, уражених бактерійним аеромонозом, та з'ясування впливу препарату Ентеронормін на ці показники.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальну частину дослідження проводили на

Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН, смт Великий Любін. Було сформовано 3 групи риб по 4 особини дволіток коропа у кожній. Контрольна група, яку становили клінічно здорові риби, отримувала лише 3 % крохмальну суспензію, перша дослідна група (Д1) – хворі на аеромоноз коропа, яким задавали лише 3 %-у крохмальну суспензію, другій дослідній групі (Д2), яку складали хворі на аеромоноз коропа, через зонд упродовж 7 діб задавали препарат Ентеронормін, з розрахунку 2 мг на 1 кг маси риби, у складі 3 % крохмальної суспензії. Перед введенням коропам досліджуваній препарат активували 14–16 год водою, збагаченою іонами біологічно активного йоду та селену у формі «Йодіс+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011). Рибу утримували в басейнах за температури води 16–18 °C та рН 6,7–7,2.

Діагноз на аеромоноз ставили за результатами бактеріологічного дослідження з урахуванням епізоотологічних даних, клінічних ознак і патолого-анатомічних змін.

Матеріалом для дослідження слугувала кров, яку брали із серця риб за допомогою піпетки Пастера, попередньо застосовувавши метакаїновий наркоз.

У зразках гепаринізованої крові визначали загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) у реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Jondal M. et al., 1972), їх субпопуляції — Т-хелпери (Th-РУЛ); кількість «активних» Т-лімфоцитів (ТА-РУЛ); кількість Т-клітин з переважно супресорною активністю

(Ts-РУЛ) — відніманням числа теофілін-резистентних Т-клітин від загальної кількості Т-лімфоцитів. Імунорегуляторний індекс (ІРІ) обчислювали за співвідношенням Th/Ts, В-лімфоцити (ЕАС-РУЛ) — в реакції комплементарного розеткоутворення з еритроцитами барана (Чернушенко Е. Ф. с соавт., 1979). За підрахунку кількості Т- і В-лімфоцитів і їх регуляторних субпопуляцій на фіксованих і фарбованих мазках крові диференціювали їх, як нульові — які не приєднали еритроцити, малодиференційовані (низькоавідні) — які приєднали від 3 до 5 еритроцитів барана, середньоавідні — які приєднали 6–10 еритроцитів барана, високодиференційовані (високоавідні) — які приєднали більше 10 еритроцитів (морула).

Одержані цифрові дані опрацьовано статистично за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики з визначенням середніх величин (М), їх квадратичної похибки (m) та достовірності різниць, які встановлювали за t-критерієм Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Функціональною основою імунної системи ссавців, а також риб є комплекс імунокомпетентних клітин — лімфоцитів, які є носіями імунологічної пам'яті та попередниками антитілоутворювальних клітин. Їх роль значною мірою визначається кількістю Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у периферичній крові риб.

З даних, наведених у таблицях 1 і 2 бачимо, що захворювання коропів на аеромоноз призводить до зміни кількості та функціональної активності імунокомпетентних клітин крові.

Таблиця 1 – Кількість Т-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові досліджуваних коропів, $M \pm m$, $n = 4$

Показник	Група		
	контрольна	I дослідна (Д1)	II дослідна (Д2)
Т-загальні Е-РУЛ, 0	64,00±0,67	70,25±0,55***	65,75±1,59
3-5	29,00±0,47	24,25±0,55**	28,25±0,99
6-10	5,25±0,55	4,25±0,29	4,50±0,33
М	1,5±0,29	1,25±0,29	1,50±0,33
%	36,00±0,67	29,75±0,55***	34,25±1,59
Т-активні А-РУЛ, 0	70,25±1,19	75,00±0,82*	71,75±1,19
3-5	24,25±0,55	20,75±0,55**	22,25±0,99
6-10	4,75±0,55	4,00±0,47	5,00±0,47
М	0,75±0,29	0,25±0,29	1,00±0,47
%	29,75±1,19	25,00±0,82*	28,25±1,19
Теофілін-резистентні Т-РУЛ, 0	72,00±1,05	79,50±0,75**	75,50±1,20
3-5	23,25±0,99	15,25±0,99**	19,00±1,05*
6-10	4,75±0,29	5,00±0,47	4,75±0,55
М	0	0,25±0,29	0
%	28,00±1,05	20,50±0,75**	23,50±0,75*
Т-супресори, %	8,00±1,25	10,00±0,67	10,50±1,00
ІРІ	3,71±0,63	2,06±0,18*	2,24 ±0,24

Примітка: Тут і надалі різниці статистично вірогідні порівняно до риб контрольної групи * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Зокрема, загальна кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) у крові коропів, хворих на аеромонозу (Д1), була відповідно на 6,3 ($p<0,001$), 4,7 ($p<0,05$) і 7,5 % ($p<0,01$) менша, ніж у клінічно здорової риби (табл. 1). Зменшення кількості вказаних субпопуляцій ефекторних клітин у крові хворих коропів цієї групи відбувалося на тлі збільшення кількості не активних у функціональному значенні T_0 -лімфоцитів ($p<0,05$ – $0,001$) та зменшення ($p<0,01$) низькоавідних Т-лімфоцитів. Ці дані свідчать про пригнічення (експресію) лімфоцитогенезу та функціональної активності імунокомпетентних клітин у крові коропів при захворюванні на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу.

Застосування королам дослідної групи у складі 3 % крохмальної суспензії препарату Ентеронормін справляло нормалізуючий вплив на стан Т-клітинної ланки специфічного захисту. Про це свідчить зростання загальної кількості Т-лімфоцитів, особливо Е-РУЛ і А-РУЛ та підвищення їх функціональної активності. Кількість вказаних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові коропів, яким застосовували досліджувані препарат, була на рівні контролю. Водночас вплив препарату на кількість теофілін-резистентних Т-РУЛ був виражений меншою мірою. Про це вказує менша ($p<0,05$) їх загальна кількість у крові коропів цієї групи стосовно контрольної. При цьому зафіксовано також меншу ($p<0,05$) кількість теофілін-резистентних Т-РУЛ із низькою щільністю рецепторів.

Захворювання коропів на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу спричиняло тенденцію до зростання у крові кількості Т-лімфоцитів супресорів, що вказує на посилення депресивної дії чинника захворювання на функцію Т-лімфоцитів у риб (табл. 1). Про це також свідчить зниження імуnoreгуляторного індексу у коропів дослідних груп порівняно до контрольної. Проте різниці виявилися вірогідними лише у коропів, яким застосовували 3 % крохмальну суспензію.

Відомо, що рівень гуморальної ланки імунітету характеризує кількість у крові В-лімфоцитів та їх функціональна активність. Як бачимо з даних, наведених у таблиці 2, загаль-

на кількість ЕАС-РУЛ у крові коропів першої та другої дослідних груп була вірогідно менша, а недиференційованої популяції – більша, порівняно з контрольною. При цьому також у крові риб дослідних груп виявлено вірогідно меншу кількість низькоавідних ЕАС-РУЛ, що свідчить про негативний вплив збудника аеромонозу на активність гуморальної ланки специфічного захисту організму риб.

Застосування королам досліджуваного препарату у складі 3 % крохмальної суспензії істотно не вплинуло на кількість ЕАС-РУЛ і їх функціональну активність. Результати цих досліджень свідчать, що дія досліджуваного препарату більшою мірою скерована на Т-клітинну ланку імунітету риб.

Загалом, результати проведених досліджень показали, що захворювання коропів на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу спричиняє імуносупресивний вплив на стан Т- і В-клітинної ланок специфічного захисту організму риб. Цей вплив характеризувався зменшенням кількості Т- і В-лімфоцитів та зниженням їх функціональної активності. Застосування хворим королам препарату Ентеронормін проявляло нормалізуючий вплив на загальну кількість і функціональну активність досліджуваних імунокомпетентних клітин, особливо Т-лімфоцитів (Е-РУЛ і А-РУЛ). Про це свідчить збільшення на поверхні Т-лімфоцитів кількості рецепторів, здатних взаємодіяти з більшою кількістю антигенних детермінант, у результаті чого зростає активність імунної відповіді організму.

Отже, під впливом чинників препарату в імунокомпетентних клітинах коропів проходить реорганізація плазматичних мембран лімфоцитів, особливо Т-лімфоцитів, у бік зміцнення експресії рецепторів плазмолем, що вказує на розширення рецепторного поля клітини. Ці зміни, ймовірно, пов'язані з комплексною адитивною дією комплексу молочнокислих бактерій (*Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* та *Bacillus subtilis spp.*) та допоміжних компонентів хітозану й пептону, а саме антагоністичною активністю до широкого спектру патогенних бактерій і грибів. Формуючи нормальну мікрофлору, тим самим нормалізує місцевий секреторний імунітет, який за принципом дії

Таблиця 2 – Відносна кількість В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ) у крові досліджуваних коропів; $M\pm m$, $n=4$

Показник	Група		
В-лімфоцити	контрольна	I дослідна (Д1)	II дослідна (Д2)
0	76,25±0,73	79,50±0,33**	79,00±0,47*
3–5	19,00±0,47	16,25±0,73*	16,75±0,55*
6–10	4,75±0,55	4,25±0,55	4,25±0,29
%	23,75±0,73	20,50±0,33**	21,00±0,47*

«від периферії до центру» позитивно впливає на загальний стан Т- і В-клітинної ланки специфічного захисту організму риб.

Висновки. 1. Захворювання короїв на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу спричиняє імуносупресивний вплив на стан Т- і В-клітинної ланки специфічного захисту організму риб. Констатовано інгібуючий вплив цього захворювання на лімфоцитогенез та функціональну активність імунокомпетентних клітин у крові короїв.

2. Застосування короїам дослідної групи у складі 3 % крохмальної суспензії препарату Ентеронормін справляло нормалізуючий вплив на стан Т-клітинної ланки специфічного захисту, проте істотно не вплинуло на кількість ЕАС-РУЛ і їх функціональну активність.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Експериментальні дослідження проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р.

Відомості про конфлікт інтересів. Автори статті стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ващик Є. В. Антагоністична дія пробіотиків щодо *P. aeruginosa* та збудників асоційованих бактеріозів птиці. Науково-технічний бюлетень. 2018. Вип. 19. № 2. С. 133–138.
2. Віщур О.І., Кичун І.В., Лешовська Н.М. та ін. Природна резистентність деяких видів риб. Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та Держ. н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок. Львів, 2008. Вип. 9. № 3. С. 343–347.
3. Вовк Н. І., Божик В.Й. Іхтіопатологія. Київ: Аграрна освіта, 2014. 308 с.
4. Кондратьєва І.А., Китаşова А.А., Ланге М.А. Со-временные представления об иммунной системе рыб. Организация иммунной системы рыб. Вестн. Моск. ун-та, каф. физиологии микроорганизмов биол. ф-та МГУ им. М.В. Ломоносова. Биология, 2001. № 4. С. 11–23.
5. Пробиотики в аквакультуре / Е.А. Котова и др. Сборник научных трудов ВНИИОК. 2012. №1-1. С. 100–103.
6. Коцюмбас І.Я., Гунчак В.М., Стецько Т.І. Проблеми використання антимікробних препаратів для стимулювання росту продуктивних тварин та альтернативи їх застосуванню. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. Львів, 2013. Вип. 14. № 3–4. С. 381–389.

7. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. Москва, 1983. 184 с.

8. Мазур Т. В., Гаркуша І.Є. Зміни білкових показників крові коропа за використання комплексу симбіотичних мікроорганізмів. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки. 2016. Т. 18. № 3. С. 181–183.

9. Петров Р. В. Біологічна цінність та токсичність м'яса короїв при лікуванні їх від аеромонозу. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. 2014. Вип. 16. № 2 (3). С. 327–332.

10. Петров Р. В. Морфологічні та хімічні властивості м'яса коропа при лікуванні від аеромонозу. Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина. 2014. Вип. 6. С. 74–77.

11. Briede I. The prevalent bacterial fish diseases in fish hatcheries of Latvia. *Environmental and Experimental Biology*. 2010. Vol. 8. P. 103–106.

12. Hematological and immune changes in *Piaractus mesopotamicus* in the sepsis induced by *Aeromonas hydrophila* / G.S. Claudiano et al. *Fish & shellfish immunology*. 2019. Vol. 88, P. 259–265. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.044>

13. Hai N.V. The use of probiotics in aquaculture. *Journal of applied microbiology*. 2015. Vol. 119.4. P. 917–935. Doi: <https://doi.org/10.1111/jam.12886>

14. *Aeromonas hydrophila* infection in silver catfish causes hyperlocomotion related to stress / G.B. Junior et al. *Microbial pathogenesis*. 2019. Vol. 132. P. 261–265. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.05.017>

15. Probiotics in aquaculture / Pandiyan Priyadarshini et al. *Drug Invention Today*. Vol. 5.1. 2013. P. 55–59. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.dit.2013.03.003>

16. Probiotics in aquaculture: a current assessment / Pérez-Sánchez Tania et al. *Reviews in Aquaculture*. 2014. Vol. 6(3). P. 133–146. Doi: <https://doi.org/10.1111/raq.12033>

17. Ronald J. Roberts. *Fish Pathology*, 4th Edition. Wiley-Blackwell, 2012. 590 p.

18. Tushak S. F. Quantitative changes in hemogram of bees using probiotic «Enteronormin». *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*. 2018. Vol. 20.83. P. 61–65.

REFERENCES

1. Vashchyk, Je.V. (2018). Antagonistichna diya probiotikiv shhodo *P. aeruginosa* ta zbudnikiv asocijovanih bakterioziv ptici [Antagonistic action of probiotics against *P. aeruginosa* and pathogens of associated bird bacteriosis]. *Scientific and Technical Bulletin*. Vol. 19, no 2, pp. 133–138.
2. Vishchur, O.I., Kychun, I.V., Leshovska, N.M., Mamchuk, N.A., Yamroz, V.Y., Matlakh, I.I., Rokyta, I.M. (2008). Prirodna rezistentnist' dejakih vidiv rib [Natural resistance of some fish species]. *Nauk.-tehn. bjul. In-tu biologii' tvaryn ta Der-*

zh. n.-d. kontrol. in-tu vetpreparativ ta korm. dobavok [Scientific and technical bulletin of Institute of animal biology and State scientific research control institute of veterinary medical products and fodder additives]. Vol. 9, no. 3, pp. 343–347.

3. Vovk, N.I., Bozhik, V.J. (2014). Ihtiopatologija [Ichthyopathology]. Kyiv: Agricultural education, 308 p.

4. Kondrateva, Y.A., Kytashova, A.A., Lanhe, M.A. (2011). Sovremennye predstavlenija ob immunnnoj sisteme ryb [Modern ideas about the immune system of fish]. Organizacija immunnnoj sistemy ryb [Organization of the immune system of fish]. Bulletin of Moscow University Department of Physiology of Microorganisms, Faculty of Biology, Moscow State University M.V. Lomonosov]. Biology, no. 4, pp. 11–23.

5. Kotova, E.A., Pyshmanceva, N.A., Osepchuk, D.V., Pyshmanceva, A.A., Thakushinova, L.N. (2012). Probiotiki v akvakulture [Probiotics in aquaculture]. Sbornik nauchnyh trudov VNIIOK [Collection of scientific works of VNIIOK]. №1-1, pp. 100–103.

6. Kotsiumbas, I. Ya., Hunchak, V.M., Stetsko, T.I. (2013). Problemi vikoristannja antimikrobnih preparativ dlja stimuljuvannja rostu produktivnih tvarin ta al'ternativi ih zastosuvannju [Problems with the use of antimicrobials to stimulate the growth of productive animals and alternatives to their use]. Naukovo-tehnichnyj bjuleten' Instytutu biologii' tvaryn i Derzhavnogo naukovo-doslidnogo kontrol'nogo instytutu vetpreparativ ta kormovyh dobavok [Scientific and technical bulletin of Institute of animal biology and State scientific research control institute of veterinary medical products and fodder additives]. Vol. 14, no. 3–4, pp. 381–389.

7. Ivanova, N.T. (1983). Atlas kletok krovi ryb [Atlas of fish blood cells]. Sravnitel'naja morfologija i klassifikacija formennyh jelementov krovi ryb [Comparative morphology and classification of fish blood cells]. Moscow, 184 p.

8. Mazur, T.V., Garkusha, I.Ye. (2016). Zmini bilkovih pokaznikov krovi koropa za vikoristannja kompleksu simbiotnyh mikroorganizmiv [Changes in the protein indices of carp blood during using a complex of symbiotic microorganisms]. Naukovyj visnik L'viv's'kogo nacional'nogo universitetu veterinarnoї medicini ta biotekhnologij imeni S. Z. Gzhyt's'kogo [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Series: Veterinary Sciences. Vol. 18, no. 3, pp. 181–183.

9. Petrov, R.V. (2014). Biologichna cinnist' ta toksichnist' m'jasa koropiv pri likuvanni ih vid aeromonozu [Biological value and toxicity of carp meat in the treatment of aeromonosis]. Naukovyj visnyk L'viv's'kogo nacional'nogo universytetu veterynarnoi' medycyny ta biotekhnologij im. G'zhyt's'kogo. [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Vol. 16, no. 2 (3), pp. 327–332.

10. Petrov, R.V. (2014). Morfologichni ta himichni vlastivosti m'jasa koropa pri likuvanni vid aeromonozu [Morphological and chemical properties of carp meat in the treatment of aeromonosis]. Visnik Sums'kogo nacional'nogo agrarnogo universitetu [Bulletin of Sumy National Agrarian University]. Serija: Veterinarna medicina [Series: Veterinary Medicine]. Vol. 6, pp. 74–77.

11. Briede, I. (2010). The prevalent bacterial fish diseases in fish hatcheries of Latvia. Environmental and Experimental Biology. Vol. 8, pp. 103–106.

12. Claudiano, G.S., Gustavo, S. (2019). Hematological and immune changes in *Piaractus mesopotamicus* in the sepsis induced by *Aeromonas hydrophila*. Fish & shellfish immunology. Vol. 88, pp. 259–265. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.044>

13. Hai, N.V. (2015). The use of probiotics in aquaculture. Journal of applied microbiology. Vol. 119.4, pp. 917–935. Available at: <https://doi.org/10.1111/jam.12886>

14. Junior, G.B., de Freitas Souza, C., Descovi, S.N., Antoniazzi, A., Cargnelutti, J.F., Baldissarroto, B. (2019). *Aeromonas hydrophila* infection in silver catfish causes hyperlocomotion related to stress. Microbial pathogenesis. Vol. 132, pp. 261–265. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.05.017>

15. Pandiyan, Priyadarshini. (2013). Probiotics in aquaculture. Drug Invention Today. Vol. 5.1, pp. 55–59. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.dit.2013.03.003>

16. Pérez-Sánchez, Tania. (2014). Probiotics in aquaculture: a current assessment. Reviews in Aquaculture. Vol. 6(3), pp. 133–146. Available at: <https://doi.org/10.1111/raq.12033>

17. Ronald, J. Roberts. (2012). Fish Pathology, 4th Edition. Wiley-Blackwell. 590 p.

18. Tushak, S.F. (2018). Quantitative changes in hemogram of bees using probiotic «Enteronormin». Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences. Vol. 20.83, pp. 61–65.

Состояние Т- и В-клеточного звена иммунитета карпов, пораженных аэромоназом, и за лечения препаратом Энтеронормин

Солопова К.Я., Вищур О.И.

Инфекционные болезни бактериальной природы составляют значительную проблему для аквакультуры, часто приводят к массовой гибели рыб и значительным экономическим потерям. Для лечения больных рыб применяют антибактериальные препараты: нитрофураны, антибиотики, кормовые антибиотики, а также красители. Поиск эффективных лечебных препаратов и изучение их влияния на организм рыб актуальны. На сегодня, с целью повышения приростов животных и для защиты от патогенных микроорганизмов, в качестве альтернативы предлагают различные группы веществ, в том числе и пробиотики. Приведены результаты исследований влияния пробиотического препарата Энтеронормин на показатели, характеризующие состояние Т- и В-клеточного звена иммунитета карпов, пораженных бактериальным аэромоназом. Энтеронормин – синбиотический препарат, состоящий из комплекса бактерий – *Enterococcus spp.*, *Bacillus subtilis spp.*, *Lactobacillus spp.*; и вспомогательных веществ – хитозана, пептона ферментативного и молотого сахара (РП № ВВ-00427-02-12 от 13.04.2012). Исследование проводили в условиях аквариумов на Львовской опытной станции Института рыбного хозяйства УААН. Контрольная группа,

которую составили клинически здоровые рыбы, получала лишь 3 % крахмальную суспензию, первая опытная группа (Д1) – больные аэромонозом карпы, которым задавали лишь 3 % крахмальную суспензию, второй опытной группе (Д2), которую составляли больные аэромонозом карпы, через зонд в течение 7 суток задавали препарат Энтеронормин, из расчета 2 мг на 1 кг массы рыбы, в составе 3 % крахмальной суспензии. Перед введением карпам исследуемый препарат активировали 14–16 час. водой, обогащенной ионами биологически активного йода и селена в форме «Йодис+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011).

Установлено, что заболевание карпов аэромонозом приводит к изменению количества и функциональной активности иммунокомпетентных клеток крови. Отмечено угнетение лимфоцитогенеза и функциональной активности иммунокомпетентных клеток в крови карпов при заболевании ассоциированной бактериальной формой аэромоноза.

Применение карпам опытной группы в составе 3 % крахмальной суспензии препарата Энтеронормин оказывало нормализующее влияние на состояние Т-клеточного звена специфической защиты, однако существенно не повлияло на количество ЕАС-ПУЛ и их функциональную активность.

Ключевые слова: рыбы, карп, аэромоноз, пробиотики, Энтеронормин, Т-лимфоциты, В-лимфоциты.

Number of T- and B-lymphocytes and their functional activity in the blood of common carps affected by Aeromonosis, and in the treatment of probiotic Enteronormin

Solopova Kh., Vishchur O.

Fish bacterial infectious diseases are a significant problem for aquaculture, often leading to massive fish deaths and significant economic losses. For fish treatment often used antibacterial drugs: nitrofurans, antibiotics, feed antibiotics, as well

as dyes. Finding effective drugs and studying their effects on the body of fish are relevant. Nowadays, different groups of substances, including probiotics, are offered as an alternative to increase the growth of animals and to combat pathogens. Here are the results of studies of the influence of the probiotic drug "Enteronormin" on the indicators that characterize the status of T- and B-cell immunity of carp affected by bacterial Aeromonosis. Enteronormin is a probiotic supplement, which contains a bacteria complex - Enterococcus spp, Bacillus subtilis spp, Lactobacillus spp; and excipients - chitosan, peptone enzymatic and ground sugar (ПП № BB-00427-02-12 від 13.04.2012). The research was conducted under the conditions of aquariums at the Lviv Research Station of the Institute of Fisheries of NAAS. The control group, which consisted of clinically healthy fish, received only 3% starch suspension, the first experimental group (D1) - Aeromonosis affected carps who were given only 3% starch suspension, the second experimental group (D2), which consisted of carps affected Aeromonosis, through the probe within 7 days was administered the drug "Enteronormin", at the rate of 2 mg per 1 kg of fish weight, in the composition of 3% starch suspension. Before feeding for the carp drug was activated for 14-16 hours water enriched with Iodine and Selenium ions in the Jodis + Se form (ТУ У 15.7-30631018-011: 2011). It is established that the disease of carp on Aeromonosis leads to changes in the number and functional activity of immunocompetent blood cells. The inhibition of lymphocytogenesis and functional activity of immunocompetent cells in carp blood in a disease associated with the bacterial form of aeromonosis was ascertained.

The use in the experimental carps group in the composition of 3% starch suspension of the drug "Enteronormin" had a normalizing effect on the state of T-cell specific protection, but did not significantly affect the amount of EAC-RUL and their functional activity.

Key words: fish, carp, aeromonosis, probiotics, Enteronormin, T-lymphocytes, B-lymphocytes.



Copyright: © Солопова Х.Я., Віщур О.І. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Солопова Х.Я.
Віщур О.І.

ID <https://orcid.org/0000-0002-9772-7745>
ID <https://orcid.org/0000-0003-4503-3896>