

Витебск : ВГУ имени П.М. Машерова, 2014. – 42 с. 15. Рекомендации по срокам и методам диагностики гельминтозов и кишечных протозоозов сельскохозяйственных и диких животных / В. М. Мироненко [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2011. – 34 с.

Поступила в редакцию 27.03.2020 г.

УДК 619:615.33

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «НЕОМИЦИН ВБФ» ПРИ БАКТЕРИОЗАХ КАРПОВЫХ РЫБ

*Герасимчик В.А., **Дегтярик С.М., *Кошнеров А.Г., *Цариков А.А.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

**РУП «Институт рыбного хозяйства», г. Минск, Республика Беларусь

Инфекционные болезни карповых рыб бактериальной этиологии наносят прудовым хозяйствам значительный экономический ущерб. При проведении терапии и химиопрофилактики необходимо учитывать чувствительность возбудителей бактериозов к применяемым в хозяйствах антибиотикам, к которым у бактерий постепенно развивается резистентность. Поэтому изыскание новых высокоэффективных и безвредных средств лечения и профилактики аэромоноза является актуальной проблемой современного рыбоводства. Применение ветеринарного препарата «Неомицин ВБФ» при аэромонозе карпов позволяет получить высокий терапевтический эффект и не оказывает негативного влияния на организм рыб. **Ключевые слова:** бактериозы, аэромоноз, терапевтическая эффективность, лечебный комбикорм, антибиотик, неомицин, прудовое рыбоводство, рыба, карп.

THERAPEUTIC EFFICACY OF THE VETERINARY PREPARATION «NEOMYCIN VBF» AGAINST THE BACTERIOSES OF CARP FISH

*Herasimchik U.A., **Dzyahsyaryk S.M., *Koshnerau A.G., *Tsarykau A.A.

*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

**Fish Industry Institute, Minsk, Republic of Belarus

Significant economic damage to pond farms is caused by infectious diseases of bacterial etiology of carp. When conducting therapy and chemoprophylaxis, it is necessary to take into account the sensitivity of the causative agents of bacterioses to antibiotics used in farms, to which resistance is gradually developing in bacteria. Therefore, the search for new highly effective and harmless means of treatment and prevention of aeromonosis is an urgent problem of modern fish farming. The use of the veterinary preparation «Neomycin VBF» for carp aeromonosis allows to obtain a high therapeutic effect and does not adversely affect the fish organism. **Keywords:** bacterioses, aeromonosis, therapeutic efficacy, medicinal feed, antibiotic, neomycin, pond fish farming, fish, carp.

Введение. Значительный ущерб рыбному хозяйству в современных условиях интенсивного развития промышленного рыбоводства наносят инфекционные болезни рыб. Особую опасность представляют инфекции бактериальной этиологии, в число которых входит аэромоноз карпов, регистрирующийся повсеместно. Ущерб рыбохозяйственной отрасли при бактериозах связан с гибелью рыб и ухудшением качества рыбной продукции из-за снижения темпа роста, упитанности и плодовитости рыб. При остром течении бактериальных болезней может наблюдаться массовая гибель рыб, достигающая 70–100% от посаженного в пруд поголовья [1].

Одной из важнейших мер повышения рыбопродуктивности является применение научно обоснованных способов лечения заболевших рыб и профилактики инфекционных болезней. Профилактика заболеваний рыб в прудовых хозяйствах позволяет значительно повысить эффективность рыбоводной отрасли и дает возможность предотвратить массовую гибель объектов аквакультуры. Таким образом, благополучие рыбоводных хозяйств по болезням рыб является важнейшим условием их развития.

Традиционно для лечения и профилактики бактериальных инфекций широко применялись препараты нитрофуранового ряда и антибиотики пенициллиновой группы, применение которых в настоящее время в рыбоводстве запрещено либо ограничено.

В последние годы на предприятиях рыбоводной отрасли используется ряд антибактериальных препаратов, таких как ципрофлокс, рифампицин и др. Однако в связи с тем, что эти препараты применяются несколько лет подряд, они стали неэффективными из-за снижения чувствительности к ним бактериальной флоры. К тому же, бесконтрольно используемые для лечения рыб, больных аэромонозом, антибиотики отрицательно воздействуют на организм рыб и экологическое состояние водоемов.

Поэтому актуальной задачей ихтиопатологии является поиск новых и эффективных отечественных препаратов для защиты рыб от бактериальных инфекций. Наличие и применение эффективных

средств и способов защиты выращиваемых видов рыб от инфекционных болезней позволит снизить отходы рыбы и затраты на проведение противоэпизоотических мероприятий.

Целью исследований явилось проведение клинических и производственных испытаний препарата «Неомицин ВБФ» (производитель ОАО «БелВитунифарм») при аэромонозе карпов.

Для достижения поставленной цели ставились следующие задачи:

□ определение эффективности опытного образца препарата «Неомицин ВБФ» при бактериозах карпа в аквариумной лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства» и установление влияния на организм рыб и возможного наличия осложнений от его применения;

□ определение эффективности препарата «Неомицин ВБФ» в условиях ОАО «Рыбхоз «Тремля» Петриковского района Гомельской области.

Материалы и методы исследований. Исследования по определению терапевтической эффективности препарата «Неомицин ВБФ» при бактериозах карповых рыб, а также установление его влияния на организм рыб выполнялись в рамках регистрации препарата на территории Республики Беларусь и проводились в условиях аквариумной лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства» и сельскохозяйственного производства в июле-августе 2019 года.

Бактериологические исследования проводили по общепринятым в ихтиопатологии методикам [2, 3, 4, 5]. Определение видовой принадлежности бактерий осуществляли согласно определителю Берджи и при помощи тест-системы API 20 E.

Экспериментальная часть работы была проведена в боксовых и аквариальных помещениях лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства».

Чувствительность представителей условно-патогенной для рыб микрофлоры определяли диско-диффузным методом. При этом использовали бактериальные штаммы, находящиеся в коллекции лаборатории, выделенные от больных рыб: *Aeromonas hydrophila* №33 (из печени карпа), *Pseudomonas aeruginosa* №26 (из печени пестрого толстолобика), *Shewanella putrefaciens* №7 (из язвы карпа), *Proteus vulgaris* №21 (из селезенки карпа). Суспензию суточной культуры указанных бактерий готовили на физрастворе, после чего по 1 мл засеивали на чашки Петри, просушивали 30–40 минут и накладывали диски, пропитанные суспензией препарата «Неомицин ВБФ» различной концентрации: 30 мкг АДВ/диск (концентрация, как на дисках заводского изготовления) и 3 мкг АДВ/диск (концентрация в 10 раз меньше).

Чтобы изготовить диски с концентрацией препарата 3 мкг АДВ/диск, к 10 мл стерилизованной воды добавляли 30 мг препарата. Таким образом, в 0,1 мл раствора содержалось 0,3 мг препарата, а на одном диске – 0,003 мг АДВ. Для изготовления дисков с концентрацией 30 мкг АДВ/диск по аналогичной схеме к 10 мл стерилизованной воды добавляли 300 мг препарата «Неомицин ВБФ».

Диски накладывали на чашки Петри с МПА, засеянные суточными культурами бактерий, инкубировали в термостате в течение 24 часов при температуре +28°C и затем измеряли диаметры зон задержки роста. При наличии зоны задержки роста 11 мм и менее штамм определяли как нечувствительный или резистентный к препарату; 11–15 мм – малочувствительный, 15–25 мм – чувствительный; более 25 мм – высокочувствительный [6, 7, 8].

Каждый опыт проводили 3-кратно. Контролем служили чашки, засеянные аналогичными культурами, с наложением дисков, пропитанных дистиллированной водой без препарата.

Для постановки опытов по определению профилактической и терапевтической активности препарата «Неомицин ВБФ» *in vivo* суточную бактериальную культуру вводили рыбам путем инъекции под грудной плавник; затем препарат «Неомицин ВБФ» растворяли в теплой воде и задавали *per os* при помощи катетера.

Объем раствора антибиотика, задаваемый рыбе, был рассчитан в зависимости от индивидуальной массы каждой рыбы. Острую и хроническую токсичность препарата для рыб изучали согласно соответствующим «Методическим указаниям» [9, 10].

Для постановки экспериментов в лабораторных условиях были использованы клинически здоровые годовики карпа общим количеством 140 экз., массой 21–24 г.

Производственные испытания препарата «Неомицин ВБФ» проводили в условиях ОАО «Рыбхоз «Тремля» Петриковского района Гомельской области на фоне принятых в хозяйстве технологии ведения рыбоводства, условий кормления и содержания, а также схем ветеринарных мероприятий.

С целью определения терапевтической эффективности препарата «Неомицин ВБФ» был использован двухлеток карпа в нагульном пруде № Н-1 площадью 50 га. В качестве контроля – двухлеток карпа в нагульном пруде № Н-4 площадью 86 га.

В качестве препарата-сравнения был выбран препарат «Энротим 10%» (производитель: ООО «ТМ»).

Рыбам опытной группы применяли препарат «Неомицин ВБФ» в виде лечебного гранулированного корма в дозе 20 мг АДВ/кг массы рыбы (4 кг препарата на тонну комбикорма). Лечебный гранулированный корм с препаратом применяли из расчета 5% от массы рыбы 5 дней подряд.

Рыбам контрольной группы задавали препарат «Энротим 10%» в виде лечебного гранулированного корма в дозе 25 мг АДВ/кг массы тела рыбы (2,5 кг препарата на тонну комбикорма) в течение 5 дней.

Перед применением препаратов «Неомицин ВБФ» и «Энротим 10%» карп, содержащийся в прудах № Н-1 и № Н-4, был обследован на наличие признаков заболевания. У отловленной больной рыбы наблюдались такие клинические признаки, как ерошение чешуи, геморрагии, асцит, вялость при движении.

Терапевтическую эффективность определяли по отсутствию клинических признаков заболевания, наличию осложнений и летальности в опытной и контрольной группах рыб.

По истечении 10 дней после применения лечебного комбикорма из обоих прудов осуществили контрольный отлов рыбы.

Ветеринарный препарат «Неомицин ВБФ» (Neomycini VBF) представляет собой порошок от белого до желтовато-белого цвета, который легко растворим в воде. В 100,0 г препарата содержится 640 мкг неомицина сульфата и наполнителей до 100,0 г. Неомицина сульфат оказывает бактерицидное действие на чувствительные микроорганизмы, находящиеся в различных стадиях развития, в том числе и в стадии покоя.

Резистентность микроорганизмов к неомицину развивается медленно в небольшой степени. Препарат применяют для лечения рыб при бактериальных инфекциях (аэромоноз, псевдомоноз, протеоз) у карпов, сазанов и их гибридов, белых амуров. Прудовым карповым рыбам (карп, сазан, их гибриды, карась серебряный, белый амур) препарат применяют в виде лечебного гранулированного корма в дозе 20 мг АДВ/кг массы рыбы (4 кг препарата на тонну комбикорма). Лечебный гранулированный корм с препаратом применяют из расчета 5% от массы рыбы, 5 дней подряд. Товарной рыбе скормливание лечебных кормов с препаратом прекращают за 7 дней до реализации ее в торговую сеть.

Результаты исследований. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Чувствительность возбудителей бактериозов рыб к препарату «Неомицин ВБФ» *in vitro*

Вид бактерий	Диаметр зоны задержки роста, мм	
	3 мкг АДВ/диск	30 мкг АДВ/диск
<i>Aeromonas hydrophila</i> №33	30–31	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> №26	36–38	–
<i>Shewanella putrefaciens</i> №7	42–45	–
<i>Proteus vulgaris</i> №21	40–42	–

Если было видно, что зона задержки роста составляет более 40 мм, опыт повторяли, при этом диск с указанной концентрацией препарата помещали на отдельную чашку для более точного измерения диаметра.

Результаты экспериментов, проведенных *in vitro*, свидетельствуют, что препарат «Неомицин ВБФ» обладает высокой антимикробной активностью по отношению к условно-патогенным для рыб бактериям, относящимся к родам *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Shewanella* и *Proteus*. При этом отмечено, что практически во всех вариантах опыта чувствительность бактерий к препарату можно охарактеризовать как высокую.

При использовании дисков с содержанием 30 мкг АДВ/диск чувствительность определить не удалось, поскольку рост бактерий на чашках был полностью подавлен. На контрольных чашках наблюдался сплошной рост бактериальных культур.

При изучении терапевтической и профилактической эффективности препарата «Неомицин ВБФ» *in vivo* испытания проводили на годовиках карпа общим количеством 60 экз. На момент проведения экспериментов рыба была клинически здорова, упитана, носительства эктопаразитов, а также наличия эндопаразитов, признаков инфекционных заболеваний не наблюдалось.

Рыба для проведения опытов завезена из благополучного по инфекционным заболеваниям рыбобоводного хозяйства – СПУ «Изобелино». При проведении исследований подопытную рыбу размещали в аквариумах емкостью 60 л по 10 экз. в каждой группе при постоянной аэрации. Контролем служили аквариумы, в которых рыба содержалась в аналогичных с опытными условиях, но без кормления препаратом.

Для определения *терапевтической эффективности* препарата при его скормливания рыбу в начале опытов инфицировали штаммом из коллекции лаборатории *Aeromonas* №33, ранее показавшим себя патогенным для карповых рыб.

Жидкую суточную бактериальную культуру вводили внутривентрально путем инъекции под грудной плавник в дозе 0,2–0,3 мл в зависимости от размера рыбы. После проявления признаков бактериальной инфекции рыбе в течение 5 дней при помощи катетера вводили *per os* препарат в определенной концентрации в количестве, рассчитанном индивидуально для каждой особи. Рыбе из контрольных групп вводили физиологический раствор в таком же количестве.

Наблюдение за подопытной рыбой вели в течение 14 дней после окончания кормления, при этом регистрировали отклонения в поведении, появление или исчезновение клинических признаков инфекционных заболеваний, гибель рыб.

Ежедневно во всех вариантах опытов рыбу подвергали клиническому осмотру, а в конце опыта – патологоанатомическому вскрытию. Результаты опытов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Эффективность терапевтического и профилактического действия препарата «Неомицин ВБФ» при скармливании рыбе

Концентрация препарата, мг АДВ/кг*	Заболело, %	Погибло, %
5	100	100
10	90	80
15	80	50
20	100	10
50	80	0
контроль	100	100

При введении суспензии аэромонад заболело 80–100% рыб. Отмечено ерошение чешуи, геморрагии, экзофтальмия, гиперемизированные участки на поверхности тела.

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют, что лечебным эффектом обладает доза 20 мг АДВ на 1 кг массы тела рыбы (м. т. р.). Дозы 5, 10 и 15 мг АДВ/кг оказались явно недостаточными для лечения больных рыб при аэромонозе (погибло от 50 до 100% зараженных рыб).

При увеличении дозы до 20 мг АДВ/кг гибели рыб практически не наблюдалось (исключение составила 1 заболевшая особь). В контроле, без применения препарата, за 10 суток погибли все зараженные рыбы.

Таким образом, для лечения рыб при аэромонозе оптимальной является доза 20 мг АДВ/кг м.т.р.

Для определения *острой и хронической токсичности* использовали годовиков карпа общим количеством 80 экз.

На момент проведения экспериментов вся рыба была клинически здорова, упитана, носительства эктопаразитов, а также наличия эндопаразитов, признаков инфекционных заболеваний не наблюдалось. При проведении исследований подопытную рыбу разместили в аквариумах емкостью 60 л по 10 экз. на каждый вариант опыта и контроля.

Кормили рыбу в течение 5 дней. Наблюдение за поведением и состоянием рыбы после окончания каждого опыта вели в течение 14 суток. Ежедневно рыбу подвергали клиническому осмотру, в конце опыта проведено патологоанатомическое вскрытие, осмотр и оценка состояния внутренних органов.

Для определения *острой токсичности* при назначении внутрь готовили раствор исследуемого препарата путем его разведения в кипяченой воде из расчета 1 г препарата на 100 мл воды, затем разбавляли до необходимой концентрации и задавали рыбе при помощи катетера *per os* в течение 5 дней подряд. Изучали действие на рыб препарата в следующих дозах (в пересчете на лечебный корм): 2 кг/т, 4 кг/т, 8 кг/т, 12 кг/т, 20 кг/т.

В контрольных аквариумах рыба ежедневно получала аналогичным способом такое же количество кипяченой воды. Схема и результаты опыта по определению острой токсичности препарата «Неомицин ВБФ» представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, ни лечебная доза (4 кг/т), ни доза, превышающая ее в 5 раз (20 кг/т), не вызывают симптомов отравления, отклонений в поведении или гибели рыб.

Таблица 3 – Острая токсичность препарата для рыб при назначении *per os*

Доза препарата, кг/т	Заболевание рыбы, %	Гибель рыбы, %
2	0	0
4	0	0
18	0	0
12	0	0
20	0	0
контроль	0	0

За период проведения эксперимента и последующего наблюдения изменения поведения и гибели опытных и контрольных рыб не зарегистрировано, признаков заболевания или интоксикации не отмечено. Годовики карпа в опытных и контрольных аквариумах были подвижны и активны. При клиническом осмотре патологических изменений не обнаружено ни в одном варианте опыта. При патологоанатомическом вскрытии изменений внутренних органов не установлено, они находились в пределах нормы.

Таким образом, в результате изучения острой токсичности препарата «Неомицин ВБФ» установлено, что он не токсичен для рыб. LD₅₀ установить не удалось, поскольку за весь период наблюдения гибели рыб не зарегистрировано.

Хроническую токсичность препарата изучали на годовиках карпа (по 10 экз. в опытном аквариуме, где рыбе в течение 10 дней скармливали препарат в малой дозе 5 мг АДВ/кг, и в контрольном аквариуме, где рыба содержалась в аналогичных опытных условиях, но не получала препарата). Наблюдение за рыбой велось в течение 30 дней после окончания эксперимента. В результате определения хронической токсичности препарата при длительном применении в малой дозе не установлено какое-либо его токсическое воздействие на организм рыб.

Подопытные рыбы оставались живы на протяжении всего срока эксперимента и последующего наблюдения. Не отмечено отклонений в их поведении, а также не выявлено изменений со стороны кожных покровов, жабр и плавников. При вскрытии внутренние органы находились в пределах нормы, без каких-либо изменений. Рыбы из опытных групп ничем не отличались от рыб из контроля.

При проведении *производственных испытаний* препарата «Неомицин ВБФ» с целью определения его эффективности в условиях ОАО «Рыбхоз Тремля» Петриковского района Гомельской области по истечении 10 дней после применения лечебного комбикорма из обоих прудов осуществили контрольный отлов рыбы. При контрольном осмотре рыбы признаков заболевания выявлено не было (чешуя цельная, блестящая, с перламутровым оттенком, удерживается прочно, асцита, геморагий и ерошения чешуи не отмечено). Отхода рыбы в опытной и контрольной группе не отмечено, побочных явлений также не выявлено.

По терапевтической эффективности препарат «Неомицин ВБФ» не уступает препарату «Энротим 10%».

Заключение. Ветеринарный препарат «Неомицин ВБФ», изготовленный ОАО «БелВитуни-фарм», обладает высокой антимикробной активностью по отношению к условно-патогенным для рыб бактериям, представителям родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Shewanella* и *Proteus*.

Для лечения карповых рыб при аэромонозе и других бактериальных инфекциях оптимальной является доза 20 мг АДВ/кг. Лечебное кормление следует проводить 5 дней подряд.

В результате изучения острой и хронической токсичности препарата «Неомицин ВБФ» установлено, что он безопасен для рыб. Данный препарат в производственных испытаниях показал высокий терапевтический эффект при аэромонозе карпов.

Литература. 1. Герасимчик, В. А. *Болезни рыб и пчел : учебное пособие для студентов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина»* / В. А. Герасимчик, Е. Ф. Садовникова. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 293 с. 2. *Лабораторный практикум по болезням рыб : учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности «Ихтиология и рыбоводство» и для учащихся средних специальных учебных заведений, обучающихся по специальности «Ихтиология и рыбоводство»* / В. А. Мусселиус [и др.] ; ред. В. А. Мусселиус. – Москва : Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 295 с. 3. *Методы общей бактериологии : учебно-методическое пособие* / сост. Д. А. Васильев [и др.]. – Ульяновск : Ульяновская ГСХ, 2008. – 130 с. 4. Юхименко, Л. Н. *Современное состояние проблемы аэромоноза рыб* / Л. Н. Юхименко, Г. С. Койдан // *Экспресс-информация / Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментального рыбного хозяйства*. – Москва, 1997. – Вып. 2. – С. 1–5. 5. Юхименко, Л. Н. *Временные рекомендации по выделению и идентификации аэромонад* / Л. Н. Юхименко, В. Ф. Викторова, И. Фаркаш. – Москва : ВНИИПРХ, 1987. – 14 с. 6. *Методические указания по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных : справочник* / сост. Б. И. Антонов [и др.] ; под ред. Б. И. Антонова // *Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции*. – Москва : Агропромиздат, 1986. – С. 270–278. 7. *Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. EUCAST Definitive document*. – 1998. – Vol. 4. – P. 291–296. 8. NCCLS. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : 9-th informational supplement M100–S9*. – 1999. – Vol. 19. – N 1. – P. 26. 9. *Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве* / Министерство сельхозпрода СССР. – Москва, 1988. – С. 18. 10. *Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии : методические указания* / Национальная академия наук Беларуси, Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского ; сост. А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.

Поступила в редакцию 10.03.2020 г.