

Герасимчик В.А., доктор ветеринарных наук, профессор¹

Кошнеров А.Г., магистр ветеринарных наук¹

Дегтярик С.М., кандидат биологических наук²

Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук²

Слободницкая Г.В., кандидат сельскохозяйственных наук²

¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

²РУП «Институт рыбного хозяйства», г. Минск

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА «СУЛЬФАПРИМ 48 БТ» ПРИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯХ КАРПОВЫХ РЫБ

Резюме

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 «Сульфапим 48 БТ» 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, Сульфапим 48 БТ, прудовое рыбоводство, рыба, карп.

Summary

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 «Sulfaprim 48 BT» 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, Sulfaprim 48 BT, pond fish farming, fish, carp.

Поступила в редакцию 03.12.2021 г.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие пресноводной аквакультуры привело к проявлению и распространению большого числа бактериальных заболеваний, которые наносят значительный ущерб рыбоводным хозяйствам (снижение качества рыбопродукции, упитанности, темпа роста, плодовитости, а также гибель рыб). При остром течении бактериальных болезней (аэромоноз, псевдомоноз, флексибактериоз) гибель рыб достигает 70 %, а в отдельных случаях доходит до 100 %.

Благополучие рыбоводных организаций по инфекционным болезням является важнейшим условием их развития. Про-

ведение плановых лечебно-профилактических мероприятий позволяет значительно повысить эффективность отрасли и дает возможность предотвратить массовый отход рыб.

В настоящее время применение многих препаратов в рыбоводстве запрещено либо ограничено, что сокращает арсенал лечебных и профилактических средств, доступных ихтиопатологам. В последние годы на предприятиях рыбоводной отрасли используется ряд антибактериальных препаратов, таких как энротим, ципрофлокс, рифампицин и др. Однако в связи с тем, что они применяются уже около

10 лет, чувствительность бактерий к ним снижается, а их использование становится малоэффективным.

В связи с этим разработка и адаптация для нужд рыбоводной отрасли современных эффективных и доступных препаратов, а также новых методов их применения для защиты рыб – объектов аквакультуры – от бактериальных инфекций является актуальной задачей науки. Применение таких средств и способов защиты от инфекционных болезней позволит минимизировать выбытие выращиваемой рыбы и снизить затраты на проведение противоэпизоотических мероприятий.

Целью наших исследований являлось проведение лабораторных и производственных испытаний препарата «Сульфатрим 48 БТ», произведенного ООО «БелЭкоТехника» (Республика Беларусь), при бактериозах карпа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по определению терапевтической эффективности препарата «Сульфатрим 48 БТ» при бактериальных инфекциях карпа, а также установление его влияния на организм рыб проводились в условиях лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства» и рыбохозяйственных предприятий.

Бактериологические исследования проводились по общепринятым в ихтиопатологии методикам [1, 5, 6, 7, 8]. Определение видовой принадлежности бактерий осуществляли согласно определителю Берджи [3] и при помощи тест-системы API (API 20 E, API Staph).

Экспериментальная часть работы была проведена в боксовых и аквариальных помещениях лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства». Для постановки экспериментов в лабораторных условиях было использовано 140 экземпляров сеголетка карпа, завезенных из рыбоводных хозяйств Республики Беларусь (СПУ «Изобелино» и ОАО ОРХ «Селец»).

Для экспериментальной работы при определении чувствительности возбудите-

лей бактериальных инфекций к антибиотикам были использованы находящиеся в коллекции лаборатории штаммы бактерий родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Shewanella*, изолированные от больных рыб.

На начальном этапе работы была определена чувствительность патогенных штаммов бактерий к препарату «Сульфатрим 48 БТ» методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков. Подготовку осуществляли в лабораторных условиях: стерильные бумажные диски пропитывали препаратом из расчета 5 мкг АДВ на 1 диск (аналогично стандартным дискам фабричного изготовления).

Суспензию суточной культуры указанных бактерий готовили на изотоническом растворе натрия хлорида, после чего засеивали по 1 мл на агар в чашки Петри, просушивали в течение 30–40 минут и накладывали диски (по 1 диску на чашку), пропитанные водной суспензией препарата «Сульфатрим 48 БТ» из расчета 5 мкг АДВ на диск.

В качестве контроля использовали чашки, засеянные аналогичными бактериальными культурами, но с дисками, пропитанными дистиллированной водой без препарата.

Каждый опыт проводили в 3 повторностях. После инкубации в термостате в течение 24 часов при температуре плюс 26 °С измеряли диаметры зон задержки роста (в миллиметрах). При наличии зоны задержки роста до 11 мм включительно штамм определяли как нечувствительный (резистентный) к препарату, 12–15 мм – малочувствительный, 16–25 мм – чувствительный, более 25 мм – высокочувствительный [3, 9, 10].

Следующим этапом экспериментальной работы было внесение препарата на поверхность агара из расчета 40, 80 и 160 мг препарата на 10 мл среды, что соответствует в пересчете на лечебный корм 4, 8 и 16 кг/т. На поверхность застывшего агара бактериологической петлей высевали по секторам бактериальные культуры. Контролем служили чашки, засеянные те-

ми же микроорганизмами, но без добавления препарата «Сульфатрим 48 БТ».

Для постановки опытов по определению терапевтической активности препарата *in vivo* и токсичности использовали сеголетков карпа (60 экземпляров). На момент проведения экспериментов рыба была клинически здорова, упитана, носительства эктопаразитов, а также наличия эндопаразитов, признаков инфекционных заболеваний не наблюдалось. Для проведения опытов рыба была завезена из благополучных по инфекционным заболеваниям организаций – ОАО «Опытный рыбхоз “Селец”» и СПУ «Изобелино». При проведении исследований подопытную рыбу размещали в аквариумах емкостью 60 л по 10 экземпляров в каждой группе при постоянной аэрации. Контролем служили аквариумы, в которых рыба содержалась в аналогичных с опытными условиях, но не подвергалась обработке препаратом.

Для проведения экспериментов определенное количество препарата «Сульфатрим 48 БТ» (500–6000 мг/100 мл) растворяли в теплой воде и задавали рыбе *per os* при помощи катетера исходя из индивидуальной массы каждой особи по формуле:

$$X = 0,02A,$$

где X – количество суспензии препарата (мл);

A – масса рыбы (г).

В каждом варианте опыта (для каждой дозы) и в контроле исследовали по 10 экземпляров карпа. Препарат задавали ежедневно 5 дней подряд. Испытывали следующие дозы: 40 мг/кг (мг препарата на кг живой массы рыбы), 60, 80, 100, 120 и 140 мг/кг.

Для определения эффективности препарата «Сульфатрим 48 БТ» карпов в начале опытов инфицировали патогенным штаммом *Aeromonas* № 56. Для ускорения инфекционного процесса и проявления соответствующих клинических признаков жидкую суточную бактериальную культуру в концентрации 3×10^9 микробных клеток в 1 мл суспензии вводили внутривентально путем инъекции под грудной плав-

ник по 0,2–0,3 мл в зависимости от размера и массы рыбы. После проявления признаков бактериальной инфекции (гиперемированные участки, ерошение чешуи, экзофтальмия, язвы) рыбам из опытных групп начали задавать препарат в перечисленных выше дозах. Рыба из контрольных групп препарат не получала.

Наблюдение за подопытной рыбой вели в течение 14 дней, при этом регистрировали отклонения в поведении, появление или исчезновение клинических признаков бактериозов, гибель рыб. Ежедневно во всех вариантах опытов рыб подвергали клиническому осмотру, а в конце опыта – патологоанатомическому вскрытию. Если у рыб развивались клинические признаки инфекционного процесса, отмечали, что рыба «заболела», а если процесс оканчивался гибелью – «погибла».

Острую и хроническую токсичность препарата для рыб изучали согласно соответствующим методическим указаниям [2, 3, 4]. Использовали 70 экземпляров сеголетков карпа. На момент проведения экспериментов вся рыба была клинически здорова, упитана, носительства эктопаразитов, а также наличия эндопаразитов, признаков инфекционных заболеваний не наблюдалось. При проведении исследований рыбу разместили в аквариумах емкостью 60 л по 10 экземпляров на каждый вариант опыта и контроля. Ежедневно рыб подвергали клиническому осмотру, а в конце опыта – патологоанатомическому вскрытию, оценивая состояние внутренних органов.

Для определения острой токсичности исследуемый препарат скармливали в дозах 100, 150, 300, 600 мг/кг (дозы, до 6 раз превышающие предполагаемую терапевтическую). Количество суспензии препарата (мл), задаваемое каждой рыбе, рассчитывали по формуле. Препарат задавали ежедневно в течение 5 дней. Рыба из контрольных групп препарат не получала.

Хроническую токсичность препарата изучали на том же виде рыб, размещенных по 10 экземпляров в опытных аквариумах (препарат задавали в течение 14 дней

в малой дозе – 40 мг/кг) и по 10 экземпляров в контрольных аквариумах (условия содержания, аналогичные опытным, но препарата рыба не получала). Наблюдение за рыбой велось в течение 30 дней после окончания эксперимента.

Производственные испытания препарата «Сульфаприм 48 БТ» проводились в условиях ОАО «Рыбхоз “Тремля”» Петриковского района Гомельской области на фоне принятых в хозяйстве технологий ведения рыбоводства, условий кормления и содержания, а также схем ветеринарных мероприятий. Для определения терапевтической эффективности препарата «Сульфаприм 48 БТ» был использован двухлеток карпа в нагульном пруду № Н-1 площадью 50 га. В качестве контроля – двухлеток карпа в нагульном пруду № Н-4 площадью 86 га. В качестве препарата-сравнения был выбран Энротим 10 %, произведенный ООО «ТМ» (Республика Беларусь).

Рыбам опытной группы применяли препарат «Сульфаприм 48 БТ» в виде лечебного гранулированного корма в дозе 100 мг АДВ/кг массы рыбы (2 кг препарата на 1 т комбикорма). Лечебный гранулированный корм с препаратом применяли из расчета 5 % от массы рыбы 5 дней подряд.

Таблица 1. – Чувствительность условно-патогенных для рыб бактерий к препарату Сульфаприм 48 БТ» *in vitro*

Вид бактерий	Диаметр зоны задержки роста, мм
<i>Aeromonas hydrophila</i> № 56 (кари)	20–25
<i>Proteus mirabilis</i> № 6 (форель)	15–18
<i>Shewanella putrefaciens</i> № 47 (ленский осетр)	22–24
<i>Pseudomonas sp.</i> № 18 (пестрый толстолобик)	16–20

Отмечено, что довольно высокой чувствительностью к препарату обладают бактерии родов *Aeromonas* и *Shewanella*, средней – бактерии родов *Proteus* и *Pseudomonas*.

На следующем этапе опытов препарат «Сульфаприм 48 БТ» в различных концентрациях вносили непосредственно в твердую питательную среду (агар), на поверхность которого после подсушивания высевали секторами перечисленные выше бактерии. Исследовали антимикробное

Рыбам контрольной группы назначали препарат «Энротим 10 %» в виде лечебного гранулированного корма в дозе 25 мг АДВ/кг массы тела рыбы (2,5 кг на 1 т корма) в течение 5 дней.

По истечении 10 дней после применения лечебного комбикорма из обоих прудов осуществляли контрольный отлов рыбы. Терапевтическую эффективность определяли по отсутствию клинических признаков заболевания, наличию осложнений и летальности в опытной и контрольной группах рыб.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении *in vitro* чувствительности условно-патогенных для рыб бактерий к ветеринарному препарату «Сульфаприм 48 БТ» диско-диффузным методом использовались бактериальные штаммы, находящиеся в коллекции лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства», выделенные от больных рыб: *Aeromonas hydrophila* № 56 (от карпа), *Proteus mirabilis* № 6 (от форели), *Shewanella putrefaciens* № 47 (от ленского осетра), *Pseudomonas sp.* № 18 (от пестрого толстолобика). Результаты исследований представлены в таблице 1.

действие препарата в следующих дозах: 2 мг/г (2 мг препарата на 1 г среды), что соответствует дозе 2 кг/т (2 кг препарата на 1 т комбикорма), 4 мг/г (4 кг/т) и 8 мг/г (8 кг/т).

В результате эксперимента установлено, что препарат «Сульфаприм 48 БТ» обладает средней и высокой антимикробной активностью по отношению к условно-патогенным для рыб бактериям – представителям группы энтеробактерий, относящимся к родам *Aeromonas*, *Proteus*, *Shewanella* и *Pseudomonas*, в то время как во

всех контрольных чашках задержки роста не наблюдалось.

При изучении **лечебной эффективности** препарата «Сульфатрим 48 БТ» *in vivo* установлено, что при введении бактерий внутрибрюшинно до применения антибиотика почти во всех вариантах опыта за-

болели все рыбы – 100 % (в редких случаях – 90 %), причем развивались характерные для аэромоноза клинические признаки: гиперемированные участки на коже, экзофтальмия, ерошение чешуи, язвы в районе грудных плавников. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2. – Эффективность лечебного действия препарата «Сульфатрим 48 БТ» при применении методом лечебных ванн

Доза препарата, мг/кг	Заболело, %	Погибло, %
40	100	90
60	90	70
80	90	30
100	100	0
120	100	0
140	100	0
К	100	100

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что с лечебной целью препарат следует применять в концентрации не ниже 100 мг/кг массы рыбы. При его использовании в указанной дозе ни одна особь рыбы не погибла. В то же время при назначении препарата в более низких дозах погибло 30–90 % заболевших карпов, а в контрольных группах на 3–7-е сутки эксперимента погибли все карпы.

Из этого следует, что для лечения бактериальных инфекций у рыб оптимальной концентрацией препарата «Сульфатрим 48 БТ» является 100 мг/кг массы рыбы. В пересчете на лечебный корм это составляет 2 кг/т для карповых рыб, потребляющих 5 % корма от общей массы рыбы.

В результате эксперимента по изучению **острой токсичности** препарата для рыб установлено, что ни терапевтическая доза (100 мг/кг), ни доза, превышающая ее в 6 раз (600 мг/кг), не вызывали симптомов отравления, отклонений в поведении рыбы или ее гибели. Сеголетки карпа в опытных и контрольных аквариумах были подвижны и активны, охотно брали корм. При клиническом осмотре патологических изменений не обнаружено ни в одном варианте опыта. При патологоанатомическом вскрытии изменений внутренних органов не установлено. Это свидетельствует о том,

что препарат «Сульфатрим 48 БТ» не токсичен для карповых рыб. LD50 установить не удалось, поскольку за период наблюдения гибели рыб не зарегистрировано.

В результате эксперимента по изучению **хронической токсичности** при длительном применении препарата «Сульфатрим 48 БТ» в малой дозе не установлено какого-либо токсического воздействия на организм рыб. Подопытные карпы оставались живы на протяжении всего срока эксперимента и последующего наблюдения. Не отмечено отклонений в их поведении, а также не выявлено изменений со стороны кожного покрова, жабр и плавников. При вскрытии внутренние органы находились в пределах нормы, без каких-либо изменений. Рыбы из опытных групп ничем не отличались от рыб контрольных групп.

При проведении **производственных испытаний по определению эффективности опытных образцов** препарата «Сульфатрим 48 БТ» групповым способом на двухлетке карпа перед применением препаратов «Сульфатрим 48 БТ» и «Энротим 10 %» рыба, содержащаяся в прудах № Н-1 и № Н-4, была обследована на аэромоноз. При клиническом осмотре у некоторых карпов отмечалось снижение активности и упитанности, анемичность жабр, ерошение чешуи, геморрагии, асцит.

По истечении 10 дней после применения лечебного комбикорма из обоих прудов осуществили контрольный отлов рыбы. При осмотре признаков заболевания выявлено не было: чешуя цельная, блестящая, с перламутровым оттенком, удерживается прочно, асцита, геморрагий и ерошения чешуи не отмечено.

Отхода рыбы в опытной и контрольной группе не отмечено, побочных явлений также не выявлено.

В результате производственного эксперимента установлено, что по терапевтической эффективности препарат «Сульфаприм 48 БТ» не уступает препарату-аналогу «Энротим 10 %».

Таким образом, препарат ветеринарный «Сульфаприм 48 БТ» показал высокий терапевтический эффект, способствовал клиническому выздоровлению рыбы в течение лечебного периода и в дальнейшем может быть рекомендован при лечении аэромоноза карпа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения острой и хронической токсичности препарата «Сульфаприм 48 БТ» установлено, что он не токсичен для рыб.

Сульфаприм 48 БТ характеризуется высокой антимикробной активностью по отношению к условно-патогенным для рыб бактериям – представителям родов *Aeromonas*, *Proteus*, *Shewanella*, *Pseudomonas*.

Препарат «Сульфаприм 48 БТ» обладает терапевтическим действием в отношении возбудителей аэромоноза карповых рыб при назначении в дозе 100 мг/кг массы тела, что в пересчете на лечебный корм составляет 2 кг/т для карповых рыб, потребляющих 5 % корма от общей массы рыбы. Кормление следует осуществлять ежедневно 5 дней подряд, задавая суточную норму корма 1 раз в сутки.

Товарной рыбе скармливание лечебного корма с препаратом прекращают не позднее 4 недель до отлова и реализации ее в торговую сеть.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимчик, В. А. *Болезни рыб и пчел: учеб. пособие для студентов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина»* / В. А. Герасимчик, Е. Ф. Садовникова. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 293 с.
2. *Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве* / Министерство сельхозпрод СССР. – М., 1988. – 18 с.
3. *Методические указания по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных // Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции : справочник / сост. Б. И. Антонов [и др.] ; под ред. Б. И. Антонова. – М. : Агропромиздат, 1986. – С. 270–278.*
4. *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. Вышелецкого ; сост. А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.
5. *Методы общей бактериологии : учеб.-метод. пособие / сост. Д. А. Васильев [и др.]. – Ульяновск : Ульяновская ГСХ, 2008. – 130 с.*
6. *Терапевтическая эффективность ветеринарного препарата «Неомицин ВБФ» при бактериозах карповых рыб* / В. А. Герасимчик [и др.] // *Ветеринарный журнал Беларуси. – Витебск, 2020. – Вып. 1 (12). – С. 16–20.*
7. Юхименко, Л. Н. *Временные рекомендации по выделению и идентификации аэромонад* / Л. Н. Юхименко, В. Ф. Викторова, И. Фаркаш. – М. : ВНИИПРХ, 1987. – 14 с.
8. Юхименко, Л. Н. *Современное состояние проблемы аэромоноза рыб* / Л. Н. Юхименко, Г. С. Койдан // *Экспресс-информация / Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментального рыбного хозяйства. – М., 1997. – Вып. 2. – С. 1–5.*
9. *Methods for the determination // ClinMicrobiol Infect of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. EUCAST Definitive document. – 1998. – Vol. 4. – P. 291–296.*
10. *NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : 9-th informational supplement M100-S9. – 1999. – Vol. 19. – № 1. – P. 26.*