



Аквакультура / Aquaculture

Применение препаратов «Левифлоксацин» и «СУБ-ПРО» при терапии бактериальной геморрагической септицемии у карповых рыб

Н.Н. Романова, Л.Н. Юхименко, В.В. Вараксина, С.Б. Токарева, А.С. Сафронова, О.В. Сехина

Филиал по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»), Дмитровский г. о., п. Рыбное, д.40А, Московская обл., 141821

E-mail: romanova_nn@vniiprh.ru

Цель работы заключалась в определении эффективных дозровок нового для аквакультуры антибактериального препарата «Левифлоксацин» для лечения бактериальной геморрагической септицемии у карпа и коррекции физиологического состояния рыб после болезни и антибиотикотерапии.

Используемые методы: эксперименты проведены в аквариальных условиях на молоди карпа, заражённой смешанной культурой возбудителей: высокопатогенных штаммов *Aeromonas* sp., *Acinetobacter calcoaceticus* и *Citrobacter*. В эксперименте испытаны 3 дозровки левифлоксацина: 250, 500 и 1000 мг/кг икhtiомассы в корм в течение 7 дней. После антибиотикотерапии был проведен курс кормления с пробиотическим препаратом «СУБ-ПРО» в дозировке 0,4 г/кг корма в течении 10 дней.

Новизна заключается в отработке схемы применения для рыб нового для аквакультуры антибактериального препарата широкого спектра действия «Левифлоксацин».

Результаты: получены положительные результаты по применению нового для аквакультуры антибиотика «Левифлоксацин» при терапии бактериальной геморрагической септицемии, что позволяет рекомендовать данный препарат как перспективный. Преимуществом препарата является оказание ингибирующего воздействия на широкий спектр бактериальных агентов и отсутствие отрицательного воздействия на физиологическое состояние рыб. В экспериментальных условиях выявлена эффективная дозировка левифлоксацина 1000 мг/кг рыбы, применяемая в течение 7 дней. Выявлена положительная динамика на показатели крови пробиотического препарата «СУБ-ПРО» после болезни и антибиотикотерапии, что обеспечило повышение сопротивляемости организма рыб.

Практическая значимость: полученные результаты будут являться основополагающими для подготовки практических рекомендаций по мерам борьбы с бактериальной геморрагической септицией рыб в аквакультуре.

Ключевые слова: антибиотик «Левифлоксацин», бактериальная геморрагическая септицемия, гематологические показатели, карп, пробиотик «СУБ-ПРО».

The use of Levofloxacin and SUB-PRO in the treatment of bacterial haemorrhagic septicemia in Cyprinids

Natalia N. Romanova, Lyudmila N. Yukhimenko, Valentina V. Varaksina, Svetlana B. Tokareva, Anna S. Safronova, Olga V. Sekhina

Freshwater fisheries branch of «VNIRO» («VNIIPRH»), 40 A, v. Rybnoe, Moscow reg., 141821, Russia

The aim was to determine the effective dosages of Levofloxacin, an antibacterial drug new for aquaculture, for the treatment of bacterial haemorrhagic septicemia in carps and improvement of the physiological state of fish following disease and antibiotic therapy.

The methods: the experiments were carried out in aquaculture on juvenile carps infected with a mixed culture of pathogens: highly pathogenic strains of *Aeromonas* sp., *Acinetobacter calcoaceticus*, and *Citrobacter*. Three dosages of Levofloxacin were tested: 250, 500, and 1,000 mg/kg of ichthyomass with feed for 7 days. After the antibiotic therapy, a course of feeding was carried out with SUB-PRO probiotic at a dose of 0.4 g/kg of feed for 10 days.

Scientific novelty: application of a broad-spectrum antibiotic Levofloxacin, an antibacterial drug new for aquaculture, in fish.

The results: positive results were obtained with Levofloxacin, an antibiotic new for aquaculture, in the treatment of bacterial haemorrhagic septicemia. The advantage of the drug is the inhibitory effect on a wide range of bacterial agents and the absence of negative effects on the physiological state of fish. An effective dosage of Levofloxacin (1,000 mg/kg of ichthyomass for 7 days) was established under experimental conditions. The positive dynamics on the blood parameters of the probiotic drug «SUB-PRO» after the disease and antibiotic therapy was revealed, which provided an increase in the resistance of the fish organism.

The practical significance: the findings will be crucial in the development of practical recommendations for the treatment of bacterial haemorrhagic septicemia of fish in aquaculture.

Keywords: Levofloxacin antibiotic, bacterial haemorrhagic septicemia, blood values, carp, SUB-PRO probiotic.

ВВЕДЕНИЕ

Одно из ведущих мест в патологии рыб занимают бактериальные болезни, вызываемые представителями различных таксономических групп: грамтрицательными бактериями (сем. Enterobacteriaceae), неферментирующими щелочеобразователями (моракселлы, ацинетобактеры, псевдомонады), энтерококками, бациллами и другими бактериальными агентами. Заболевания, вызываемые одним видом бактерий, в настоящее время практически не встречаются. Чаще всего диагностируется бактериальная геморрагическая септицемия (БГС), при которой в микробиоценозе рыб могут быть представители до 9–10 таксонов [Аморос-Хименес, Шкурина, Принцевская, 2003; Юхименко, Бычкова, 2007]. Это заболевание может поражать все виды рыб при неблагоприятном воздействии на организм высокого содержания органических веществ в воде, при превышении плотности посадки, использовании некачественных кормов, воздействии стресс-факторов, травматизации и др. Клинические признаки проявляются серозно-геморрагическим воспалением кожных покровов, асцитом, некротическим распадом кожной и мышечной тканей, поражением внутренних органов.

Сложность лечения БГС состоит в том, что его возбудителями являются несколько разновидностей бактерий, чаще всего с разной чувствительностью к антибактериальным препаратам. Основным ограничением эффективности антибиотиков является способность бактерий формировать резистентность (устойчивость) к их действию. Ранее применяемые антибиотики в аквакультуре, такие как окситетрацилин, фуразолидон, метронидазол, ципрофлоксацин всё чаще оказываются неэффективными, особенно при лечении бактериальной инфекции полиэтиологической природы. Этот процесс многократно ускоряется при необоснованном и избыточном применении антимикробных препаратов в качестве средств профилактики [Юхименко и др., 2020; Кукин и др., 2021]. Данную проблему возможно решить за счёт внедрения новых для аквакультуры препаратов.

Проведённые экспериментальные работы по подбору антибактериальных препаратов против возбудителей БГС с применением диско-диффузионного метода определения антибиотикочувствительности показали, что препарат «Левифлоксацин» обладает высокой эффективностью подавления микрофлоры [Юхименко и др., 2021].

Задача антибиотикотерапии состоит в том, чтобы остановить неконтролируемый рост бактерий в организме, но при этом минимизировать отрицательное влияние на иммунную систему. С учётом того, что ор-

ганизм должен завершить удаление антигенов после проведения антибиотикотерапии, необходимо поддержание иммунитета рыб.

В рыбоводной практике для улучшения физиологического состояния рыб, повышения неспецифической резистентности организма к неблагоприятным факторам внешней среды широко применяют пробиотик «СУБ-ПРО» на основе *Bacillus subtilis* [Юхименко, Бычкова, 2020]. В 1 г препарата содержится не менее 5×10^{10} КОЕ (колониеобразующих единиц) живых микробных клеток штамма бактерий *Bacillus subtilis* ВКПМ В-2335 в споровой форме.¹

Цель работы заключалась в определении эффективных дозировок нового для аквакультуры антибактериального препарата «Левифлоксацин» для лечения бактериальной геморрагической септицемии у карпа и коррекции физиологического состояния рыб после болезни и антибиотикотерапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Испытуемый препарат «Левифлоксацин» — синтетическое антибактериальное средство широкого спектра действия из группы фторхинолонов, левовращающий изомер офлоксацина. Препарат блокирует ДНК-гиразу, нарушает суперспирализацию и сшивку разрывов ДНК, ингибирует синтез ДНК, вызывает глубокие морфологические изменения в цитоплазме, клеточной стенке и мембранах.²

Экспериментальные работы по испытанию левифлоксацина для лечения БГС проводили в аквариальных условиях лаборатории ихтиопатологии Филиала по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ») на годовиках карпа (массой $26,7 \pm 3,5$ г). Во время эксперимента были соблюдены требования, предъявляемые к работе с биологическими патогенами III и IV групп опасности.

Эксперимент проводили после предварительной адаптации рыб к условиям содержания в течение 14 дней. Семидневный курс кормления комбикормом с ацидофилином в количестве 10% от нормы кормления проводили во время адаптации. Рыбы, используемые в эксперименте, были практически свободны от бактериальных инфекций, за исключением одной пробы (печень), в которой были обнаружены единичные бактерии *Acinetobacter calcoaceticus*. Обнаруженный вид бактерий вошёл в перечень использованных для заражения бактериальных агентов, следовательно, данное явление не могло повлиять на результат эксперимента.

¹ <http://vet-probiotic.ru/sub-pro-dozirovka-v-rybovodstve/>

² <https://www.vidal.ru/drugs/molecule/1241>

Во время проведения испытаний температура воды в аквариумах составляла 18,0 °C – 21,0 °C, содержание растворённого кислорода – 6,9–8,1 мг/л.

Результаты бактериологического анализа поступающей воды (перед заражением рыбы) были следующие: общее микробное число (ОМЧ) находилось в пределах 2940 КОЕ/мл, микробиоценоз был представлен *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas alcaligenes*. Для кормления использовали экструдированный продукционный корм для карповых видов рыб (суточная лечебная норма кормления составила ≈ 2 % от массы рыбы).

Заражение рыб опытных групп и положительного контроля проводили методом внутримышечной инъекции в количестве 0,2 мл/экз. смешанной культурой возбудителей БГС (*Aeromonas* sp. с ДНК-зонной активностью 6,0 мм, подтверждающей высокую вирулентность аэромонад, *Acinetobacter calcoaceticus* и *Citrobacter* sp.).

Рыбам в группе отрицательного контроля К (–) вводили внутримышечно такое же количество стерильного питательного бульона [Головина и др., 2016].

Рыб разделили на 5 групп по 20 экз. в каждой. Три группы заражённых рыб были пролечены антибиотиком в разных дозировках после появления клинических признаков БГС. Схема проведения эксперимента представлена на рис. 1.

Для внесения Левофлоксацина в корм пользовались методом орошения разовой порции корма водной суспензией препарата, приготовленной непосредственно перед кормлением и выдержанной в течение 10–15 минут для пропитывания корма.

Бактериологическому исследованию после проведения курса лечения левофлоксацином подлежали паренхиматозные органы (печень, почки) от 5 рыб из каждой опытной группы, и одновременно из групп отрицательного и положительного контроля. От этих



Рис. 1. Схема экспериментальных работ по терапии БГС у карповых рыб и методу коррекции их физиологического состояния после антибиотикотерапии

Fig. 1. Flow chart of experimental work on the treatment of bacterial haemorrhagic septicaemia in cyprinids and the method of improvement of their physiological state following antibiotic therapy

же рыб перед умерщвлением была отобрана кровь на гематологический анализ.

Бактериологические посевы проб паренхиматозных органов рыб проводили на питательные и дифференциально-диагностические среды: эритроагар — для определения уровня бактериальной контаминации; Эндо — для определения присутствия энтеробактерий (*Citrobacter* sp.), аэромонад (*Aeromonas* sp.) и неферментирующих щелочеобразующих бактерий (*Acinetobacter calcoaceticus*).

После отбора рыб на бактериологический и гематологический анализ для оценки эффективности применения левофлоксацина оставшиеся рыбы из опытных групп были объединены и поделены на две группы (опытная группа, получавшая СУБ-ПРО и контрольная группа, не получавшая СУБ-ПРО) по 10 рыб в каждой. Расчётное количество корма с пробиотиком СУБ-ПРО было приготовлено путём внесения препарата методом орошения водной суспензией в дозировке 0,4 г/кг корма с последующим тщательным перемешиванием и подсушиванием в тонком слое до сыпучего состояния.

Оценку физиологического состояния карпа проводили по результатам гематологического анализа, кровь отбирали из хвостовой артерии пастеровской пипеткой [Методические указания ..., 1999]. Гематологический анализ у рыб проводили два раза:

- после антибиотикотерапии левофлоксацином от 10 рыб (от 5 рыб перед проведением бактериологического анализа и дополнительно по 5 рыб было взято из аквариумов) из каждой группы: 3-х опытных групп, положительного (К+) и отрицательного контроля (К-)
- после курса получения пробиотического препарата «СУБ-ПРО» от 10 рыб из каждой группы (опытной и контрольной). Гематологический анализ включал определение следующих показателей:
 - гемоглобин — гемоглобинцианидным методом на приборе МиниГЕМ-540;
 - количество эритроцитов — пробирочным методом с подсчётом в камере Горяева;
 - содержание гемоглобина в эритроците (СГЭ) — по формуле Гительсона и Терского;
 - процентное соотношение незрелых форм эритроцитов (эритропоз) на мазках крови, окрашенных по Паппенгейму (Романовскому-Гимза);
 - количество лейкоцитов;
 - лейкоцитарную формулу;
 - абсолютное значение лейкоцитов.

Идентификацию форменных элементов крови проводили по общепринятой классификации Н.Т. Ивановой [1983].

Статистическая обработка материала проведена с помощью программы Microsoft Excel, в которой

рассчитывали среднее значение, стандартную ошибку среднего и критерии по Стъуденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После заражения смешанной культурой возбудителей БГС первые признаки заболевания (припухлость, гиперемия и изъязвление на боковой поверхности тела) в опытных группах и группе положительного контроля были отмечены у 20% рыб на 3 сутки и уже у 75% на 4 сутки. Для подтверждения контаминации вводимыми бактериальными агентами из каждой группы (3-х групп опытных, рыба была рассажена уже на варианты, а также положительного и отрицательного контроля) было взято по 1 экз. рыб на бактериологический анализ. В паренхиматозных органах (печени и почек) рыб был выявлен бактериальный рост различной интенсивности (табл. 1).

В пробах органов были обнаружены штаммы внесённых возбудителей БГС: *Aeromonas* sp., *Acinetobacter calcoaceticus*, *Citrobacter* sp., а также другие бактерии, которыми не заражали рыбу, — бактерии группы кишечной палочки (БГКП), *Pseudomonas alcaligenes* и *Moraxella* sp., которые вероятно присутствовали в поступающей воде. Паренхиматозные органы рыбы из группы отрицательного контроля К (–) (незаражённая) были свободны от бактериальной контаминации, несмотря на присутствие в воде посторонней микрофлоры, что возможно из-за более высокого уровня неспецифической резистентности организма. У рыб из опытных групп под воздействием введённых бактериальных агентов, вероятно, произошло снижение иммуно-физиологического статуса, и организм стал более восприимчив, что и проявилось в контаминации органов микрофлорой из воды.

Лечение антибиотиком «Левофлоксацин» опытных групп годовиков карпа начали на следующие сутки после подтверждения заражения. Курс терапии составил 7 дней.

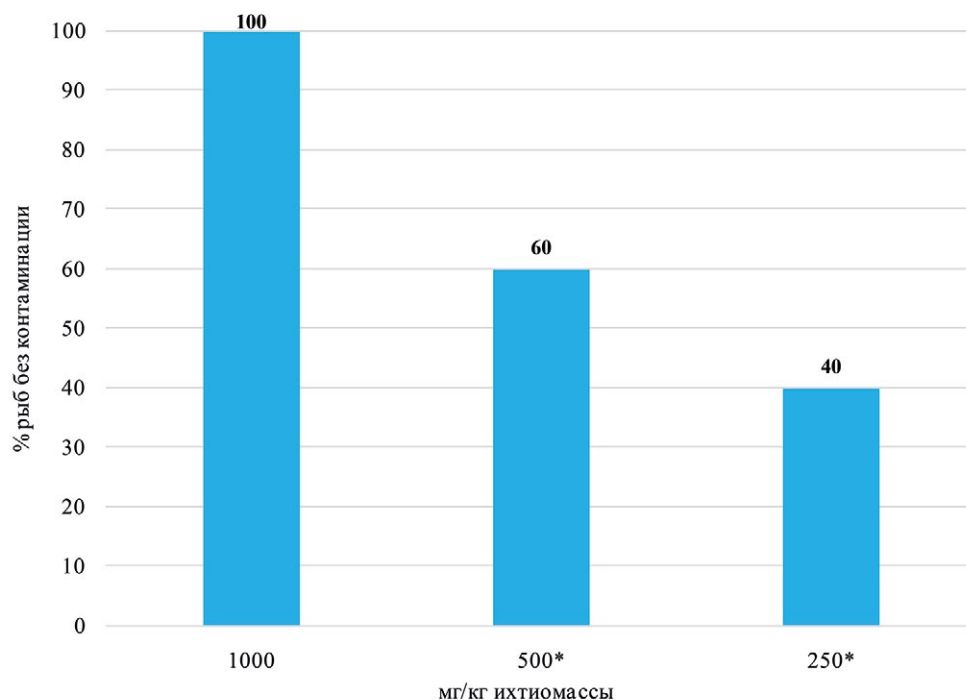
После окончания антибиотикотерапии от 5 рыб из каждой опытной группы и контрольных групп провели посевы проб печени и почек для определения уровня контаминации и микробиоценоза.

Выявлена наибольшая эффективность терапии при дозировке левофлоксацином 1000 мг/кг массы рыбы в корм в течение 7 дней, контаминация паренхиматозных органов отсутствовала. Другие испытываемые дозировки 250 и 500 мг/кг рыбы были эффективны против *Aeromonas* sp. и *Pseudomonas alcaligenes*, но на другую условно-патогенную микрофлору, которая часто является сопутствующей при возникновении БГС — *Citrobacter* sp. и *Acinetobacter calcoaceticus* не оказали влияния (рис. 2).

Таблица 1. Микробиоценоз паренхиматозных органов карпа (подтверждение заражения)
Table 1. Carp parenchymal organ microbiocenosis (confirmation of infection)

Проба	Уровень обсеменённости			Микробиоценоз
	эритроагар	Эндо		
Опытные группы рыб				
1	п	единичный	единичный	<i>Aeromonas</i> sp. (2,0;2,5)*, <i>Citrobacter</i> sp., БГКП
	пч	обильный	умеренный	БГКП, <i>Citrobacter</i> sp., <i>Aeromonas</i> sp. (2,0)*
2	п	умеренный	единичный	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> , <i>Aeromonas</i> sp. (2,5;3,0)*, <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
	пч	единичный	единичный	<i>Citrobacter</i> sp.
3	п	единичный	единичный	<i>Citrobacter</i> sp.
	пч	умеренный	умеренный	<i>Citrobacter</i> sp., <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , БГКП
Группа положительного контроля К (+)				
4	п	единичный	единичный	<i>A.</i> sp. (2,0;4,0)*, <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Moraxella</i> sp.
	пч	единичный	единичный	<i>Citrobacter</i> sp., <i>Moraxella</i> sp., БГКП
Группа отрицательного контроля К (–)				
5	п	р/н	р/н	не обнаружено
	пч	р/н	р/н	

Примечание. * – (...) – ширина зоны деполимеризации ДНК, мм (0 мм – авирулентные штаммы; 1,0–2,5 мм – слабовирулентные штаммы; 3,0–4,5 мм – вирулентные штаммы); п – печень; пч – почки.



Примечание: * – дозировки эффективны против р. Aeromonas и Pseudomonas

Рис. 2. Доля рыб из опытных групп свободных от контаминации бактериальными агентами при терапии БГС разными дозировками антибиотика «Левофлоксацин»

Fig. 2. The proportion of fish from experimental groups free from contamination with bacterial agents in the treatment of bacterial haemorrhagic septicaemia with different dosages of Levofloxacin antibiotic

Оценка физиологического состояния рыб после антибиотикотерапии проведена по гематологическим показателям (табл. 2). При развитии БГС у рыб отмечено достоверное (по критериям достоверности по Стьюденту) снижение количества красных клеток крови – эритроцитов из группы К (+) на 39%, относительно незаражённых рыб группы К (–). У рыб опытных групп, получавших антибиотик, снижение этого показателя отмечено на 21, 26 и 25 %, соответственно, для групп № 1 (250 мг/кг), № 2 (500 мг/кг) и № 3 (1000 мг/кг). При терапии более низкой дозировкой препарата отмечено достоверное увеличение количества эритроцитов относительно рыб заражённых, но не пролеченных – группа К (+).

Выявлено снижение лейкоцитов у заражённых рыб группа К (+) на 52,6% относительно незаражённых рыб группы К (–), что, возможно, является следствием миграции лейкоцитов в ткани мышц в месте инъекции культурой бактерий. У опытных групп рыб № 1 (250 мг/кг) и № 3 (1000 мг/кг) количество этих клеток остаётся на уровне показателя у заражённых рыб группы К (+), у опытной группы № 2 (500 мг/кг) – увеличивается на 39%.

На показатели крови, характеризующие физиологическое состояние рыб, не выявлено влияние

антибиотика «Левифлоксацин» в дозировках 250, 500 и 1000 мг/кг рыбы, так как аналогичные изменения были зафиксированы и у заражённой рыбы (К+), но не пролеченной.

После антибиотикотерапии проведён курс кормления СУБ-ПРО для активизации иммунной системы организма рыб. В экспериментальных условиях была подтверждена эффективность применения пробиотического препарата СУБ-ПРО в дозировке 0,4 г/кг курсом 10 дней в корма после антибиотикотерапии левофлоксацином. При коррекции физиологического состояния карпов, у рыб получавших СУБ-ПРО, увеличивается количество эритроцитов по сравнению с группой рыб, не получавших пробиотик $962,6 \pm 54,82$ и $745,0 \pm 41,79$ тыс./мкл, соответственно.

В лейкоцитарной формуле у рыб, получавших СУБ-ПРО, выявлено увеличения базофилов и псевдоэозинофилов, соответственно, в 2 и 4 раза, относительно показателей у рыб, не получавших пробиотик. Пересчёт в абсолютные значения количества этих клеток (относительно общего количества лейкоцитов) подтвердил значительное их увеличение в периферической крови рыб, получавших пробиотик (рис. 3).

Таблица 2. Результаты гематологического анализа карпа после антибиотикотерапии

Table 2. The results of haematology test in carps following antibiotic therapy

Наименование показателя	Опытные группы			Контроль К (+)	Контроль К (–)
	250 мг/кг	500 мг/кг	1000 мг/кг		
Гемоглобин, г/л	86,8±6,72	88,2±3,92	81,8±2,99	82,6±2,25	80,2±7,36
Эритроциты, тыс./мкл	1040,0±70,2* ^н	978,0±49,94*	990,0±69,86*	812,0±67,71*	1324,0±56,18
Содержание гемоглобина в эритроците (СГЭ), пг	84,6 ±7,5	91,73±8,2	84,77±7,7	104,2±7,42*	60,44±4,58
Эритропоэз (всего молодых эритроцитов), %	19,56±2,18*	12,12±2,09	13,54±0,79	10,74±2,22	11,7±1,71
Лейкоциты, тыс./мкл	27,67±5,34*	33,41±5,59	28,15±2,65*	24,02±4,73*	50,68±6,81
Лейкоцитарная формула					
Бласты, %	0,4	0	0	0	0
Нейтрофилы, %	5,4±1,36	1,8±1,0	2,6±0,68	4,4±0,68	3,6±1,03
Псевдоэозинофилы, %	0,6±0,4	1,0±0,32	1,4±0,51	0,6±0,4	1,6±0,93
Базофилы, %	2,8±0,97	5,0±3,54	5,6±1,94	4,8±1,8	2,0±0,71
Пенистые клетки, %	0,4±0,24	1,2±0,37	0,2±0,2	0,2±0,2	0,4±0,24
Моноциты, %	4,6±1,63	5,4±0,93	4,8±0,86	4,2±0,73	5,6±1,08
Лимфоциты, %	85,8±1,66	85,6±5,46	85,6±2,80	85,8±1,88	86,8±1,88

Примечание: ± – указана стандартная ошибка среднего значения; * – различия достоверны с группой К (–) Н – различия достоверно с группой К (+) относительно критерия, найденного по Стьюденту ($t_d \geq t_{st}$ – полученный в исследовании критерий достоверности разности равен или превышает стандартное значение критерия, в этом случае разность достоверна с определённой надёжностью, т.е. соответствует по знаку генеральной разности. За минимальный порог достоверности в подавляющем большинстве исследований принимается первый порог, соответствующий вероятности безошибочных прогнозов $i = 0,95$).

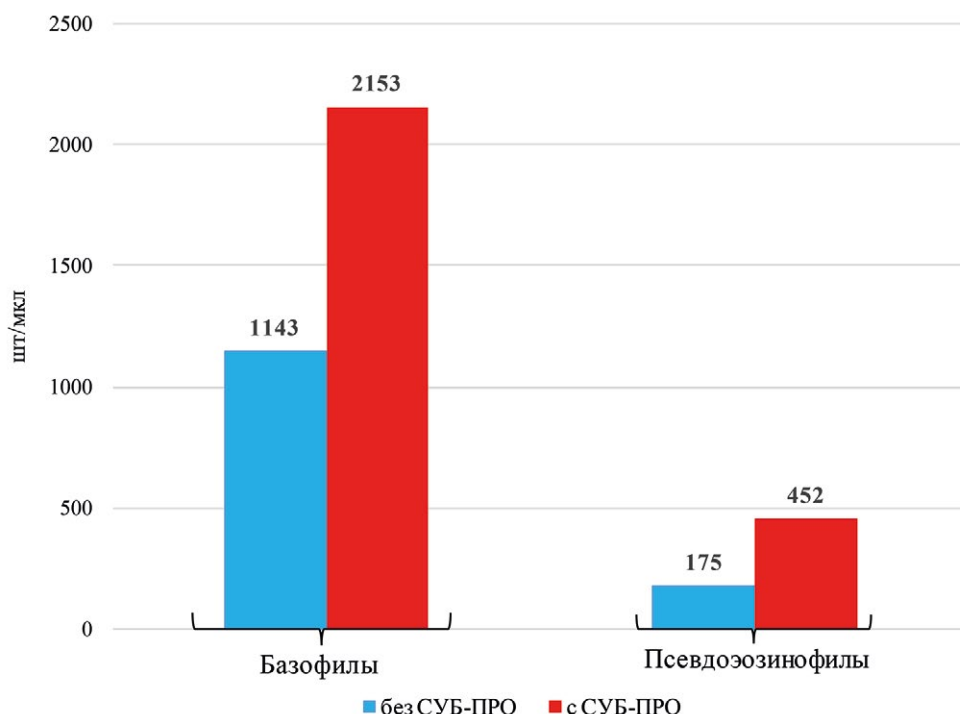


Рис. 3. Количество эффекторных клеток иммунной системы у карпа при коррекции физиологического состояния пробиотическим препаратом СУБ-ПРО

Fig. 3. Immune system effector cell count in carps when using SUB-PRO probiotic to improve the physiological state

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время в российском реестре лекарственных препаратов, разрешенных к применению в товарной аквакультуре, из антибактериальных средств зарегистрирован только Антибак (активно действующее вещество ципрофлоксацин), что ограничивает выбор рыбоводов при проведении терапевтических мероприятий.

В проведённой научно-исследовательской работе получены положительные результаты по применению нового для аквакультуры антибиотика «Левифлоксацин» при терапии бактериозов, что позволяет рекомендовать данный препарат как перспективный. Преимуществом испытуемого антибиотика является оказание воздействия на широкий спектр бактериальных агентов, которые чаще всего выявляются при диагностировании бактериальной геморрагической септицемии у рыб, а также не ухудшающей показатели крови.

При возникновении бактериальных заболеваний применение эффективных антибиотиков в безопасной для организма рыб дозировке является необходимой мерой терапии. В проведённой экспериментальной работе выявлена дозировка левифлоксацина, равная 1000 мг/кг массы рыбы в корм, которая являлась эффективной при терапии БГС. Меньшие дозировки 250 и 500 мг/кг массы рыб этого антибиотика были эффективны только для части бактериальных

агентов *p. Aeromonas* и *Pseudomonas alcaligenes*. В связи с недостаточной эффективностью эти дозировки не являются перспективными при терапии БГС, но могут быть применены при аэромонозе и псевдомонозе. Курс терапии антибиотиком составил 7 дней.

При оценке показателей крови выявленные изменения у карпа являлись следствием болезни (бактериально-геморрагической септицемии). Отрицательного влияния на показатели крови после применения левифлоксацина не выявлено, что определяет испытуемый антибиотик как препарат с наименьшим токсическим влиянием на организм рыб.

Для повышения сопротивляемости организма после болезни и антибиотикотерапии проведён курс кормления рыб пробиотическим препаратом «СУБ-ПРО». Данный препарат широко применяется в аквакультуре и относится к бактериальным препаратам из живых микробных культур, эффективность которых связана с вызываемыми ими благоприятными метаболическими изменениями в пищеварительном тракте, лучшим усвоением питательных веществ, а также антагонистическим действием на вредную для организма микрофлору.³ В данной работе была рассмотрена роль используемого пробиотика для коррекции физиологического состояния рыб на показатели крови.

³ <http://vet-probiotic.ru/o-sub-pro-biologicheskie-svoystva-pokazaniya-sposoby-primeneniya-2/>

Ранее исследования показателей крови у рыб при применении СУБ-ПРО практически не проводились.

В нашем эксперименте результаты гематологического анализа показали, что после курса кормления с пробиотическим препаратом СУБ-ПРО в дозировке 0,4 г/кг корма в течении 10 дней у рыб увеличивается в крови количество эритроцитов (на 29%). Эти клетки красной крови являются носителями гемоглобина, выполняют дыхательную функцию, регулируют кислотно-щелочное равновесие, адсорбируют токсины, принимают участие в ряде ферментативных процессов. Их повышение в крови способствует улучшению физиологического состояния организма.

В лейкоцитарной картине выявлено увеличение доли базофилов и псевдоэозинофилов. Эти клетки являются вспомогательными (эффекторными) в иммунной защите организма [Тарасова, 2010; Сидельникова, Начева, 2015]. Роль их заключается в продуцировании цитокинов — низкомолекулярных секретируемых белков, которые контролируют иммунный ответ, реакцию организма хозяина на экзогенную инфекцию, клиренс антигенов, репарацию тканей, восстановление гомеостаза [Atamas et al., 2013]. Цитокины в свою очередь активируют лимфоциты, осуществляющие механизм специфической защиты организма (выработку антител). На основании вышеперечисленных известных данных иммунного ответа организма можно предположить, что кормление рыб пробиотическим препаратом «СУБ-ПРО» способствует запуску специфического иммунного ответа, направленного на выработку «клеток памяти» (антител) против возбудителей перенесенного заболевания (на примере, БГС). Тогда как у рыб, переболевших, но не применявших курс СУБ-ПРО данный механизм активации иммунитета отсутствует.

Ранее проводили исследования по влиянию пробиотика «СУБ-ПРО» на показатели крови карпа [Романова и др., 2020]. Отмечено, что препарат улучшает общее физиологическое состояние рыб: возрастает уровень белка в сыворотке крови, повышается уровень гемоглобина и количество эритроцитов, активизирует лейкопоз. Препарат оказывает стимулирующее действие на лимфопоз, что проявляется в увеличении в периферической крови лимфоцитов, ответственных за формирование специфического и неспецифического иммунитета.

В настоящей работе мы получили подтверждающие результаты по действию пробиотика СУБ-ПРО на иммуно-физиологический статус организма карпа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые исследования по подбору средств и методов лечения бактериальной геморрагической

септицемии карпа показали высокую эффективность терапии антибактериальным препаратом «Левифлоксацин» в дозировке 1000 мг/кг рыбы курсом 7 дней. После антибиотикотерапии для улучшения физиологического состояния организма рыб и активации иммунного ответа рекомендовано проведение курса кормления с пробиотическим препаратом СУБ-ПРО в дозировке 0,4 г/кг корма курсом 10 дней.

Полученные результаты будут являться основополагающими для подготовки практических рекомендаций по мерам борьбы с БГС рыб в аквакультуре.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю признательность и благодарность коллегам, участвовавшим в подготовке осуществления эксперимента, к. б. н. П. П. Головину, М. С. Кукину, Т. А. Михайловой и консультационную помощь — д. б. н. проф. Головиной Н. А.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм

Все применимые этические нормы соблюдены.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Прикладных научно-исследовательских работ филиала по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»): «Разработка общероссийской системы региональных центров по охране здоровья объектов аквакультуры с учётом специфики технологий их выращивания».

ЛИТЕРАТУРА

- Аморос Хименес Г. К., Ларцева Л. В. 1993. Кишечная микрофлора промысловых рыб Волго-Каспийского региона // Тез. док. конф. молодых учёных ТИНРО. «Биологическое и рациональное использование гидробионтов, их роль в экосистемах». Владивосток. С. 3–4.
- Головина Н. А., Авдеева Е. В., Евдокимова Е. Б., Казимирченко О. В., Котлярчук М. Ю. 2016. Практикум по ихтиопатологии. М.: Моркнига. 417 с.
- Иванова Н. Т. 1983. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищ. пром-ть. 184 с.
- Методические указания по проведению гематологического обследования рыб. 1999. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. Ч. 2. М.: Отдел маркетинга АМБ-агро. 234 с.
- Романова Н. Н., Головин П. П., Юхименко Л. Н., Большакова Д. С., Большаков С. В. 2020. Оценка влияния пробиотика СУБ-ПРО на иммуно-физиологический статус рыб // Мат-лы науч.-практ. конф. «Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии», посв. 10-летию ассо-

- циации «Ветеринария, зоотехния и биотехнология». М.: ЗооВетКнига. С. 142–148.
- Сидельникова А.А., Начева Л.В. 2015. Цитологические особенности крови кроликов при экспериментальном описторхозе // Современные проблемы науки и образования. № 2–3. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=24028>. 11.08.2022.
- Тарасова И.В. 2010. Базофилы, тучные клетки и тромбоциты как иммунные и эффекторные клетки // Аллергология и иммунология в педиатрии. № 1 (20). С. 32–36.
- Шкурина З.К., Принцевская В.А. 2003. Результаты ихтиопатологических исследований производителей горбуши и кеты Сахалина в 2002 году // Труды СахНИРО. Т. 5. С. 259–265.
- Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И. 2007. Этиологическая структура возбудителей бактериальной геморрагической септицемии рыб // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов. 2: Расш. мат. Межд. науч.-практ. конф. Борок, 17–20 июля 2007. С. 95–98.
- Юхименко Л.Н., Токарева С.Б., Кукин М.С., Бычкова Л.И. 2021. Лечебные и профилактические мероприятия против бактериозов в рыбоводстве // Ветеринария и кормление. № 6. С. 67–69 <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-6-18>
- Atamas S., Chapoval S.P., Keegan A.D. 2013. Cytokines in chronic respiratory diseases // Biol. Rep. V. 5. № 3. P. 1–12
- Romanova N.N., Golovin P.P., Yukhimenko L.N., Bolshakova D.S., Bolshakov S.V. 2020. The effect of SUB-PRO probiotic on the immunophysiological status of fish // Proc. res.-pract. conf. «Modern Problems of Veterinary Medicine, Animal Science, and Biotechnology», devoted to the 10th anniversary «Veterinary, Animal Science, and Biotechnology» Association. Moscow: ZooVetKniga. Pp. 142–148.
- Sidelnikova A.A., Nacheva L.V. 2015. Cytological features of the blood of rabbits in experimental opisthorchiasis // Modern problems of science and education. No. 2–3. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=24028> 11.08.2022.
- Tarasova I.V. 2010. Basophils, mast cells, and thrombocytes as the immune and effector cells // Allergology and Immunology in Pediatrics. No. 1 (20). Pp. 32–36.
- Shkurina Z.K., Printsevskaya V.A. 2003. Results of ichthyopathologic study of the Sakhalin pink and chum salmon spawners in 2002 // Trudy SakhNIRO. No. 5. Pp. 259–265.
- Yukhimenko L.N., Bychkova L.I. 2007. Aetiological structure of causative agents of bacterial haemorrhagic septicaemia of fish // Problems of immunology, pathology, and health protection of fish and other aquatic organisms. Proc. of the inter. res.-pract. conf. BoroK, 17–20 July 2007. Pp. 95–98.
- Yukhimenko L.N., Tokareva S.B., Kukin M.S., Bychkova L.I. 2021. Medicinal and prophylactic measures against bacteriosis in fish farming // Veterinaria i Kormlenie. No. 6. Pp. 67–69 URL: <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-6-18>
- Atamas S., Chapoval S.P., Keegan A.D. 2013. Cytokines in chronic respiratory diseases // Biol. Rep. V. 5. № 3. P. 1–12

REFERENCES

Поступила в редакцию 26.08.2022 г.
Принята после рецензии 05.12.2022 г.