



Аквакультура

Оценка эффективности применения комплекса антибактериальных препаратов для лечения бактериальной геморрагической септицемии у рыб

Н.Н. Романова, А.В. Мышкин, Ю.П. Щелкунова, С.Б. Токарева, О.В. Сехина, П.В. Кудинов

Филиал по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»), Дмитровский г. о., п. Рыбное, д.40 А, Московская обл., 141821
E-mail: romanova_nn@vniiprh.ru

SPIN-коды: Романова Н.Н.— 9568–2700; Мышкин А.В.— 9486–3090; Щелкунова Ю.П.— 2010–9370;
Токарева С.Б.— 2429–6661; Сехина О.В. — 2838-2961; Кудинов П.В.— 5798–1745

Цель исследования: разработать терапевтические меры борьбы с бактериальной геморрагической септицемией рыб с использованием комплекса антибактериальных препаратов «Левифлоксацин» и «Хлортетрациклин».

Используемые методы: эксперименты проведены в аквариальных условиях на молоди карпа и гибридах «сибирский осетр × калуга» (далее — гибрид СО×К), заражённых смешанной культурой возбудителей: высокопатогенных штаммов *Aeromonas* sp., штаммов р. р. *Acinetobacter* и *Citrobacter*. В эксперименте испытаны 2 варианта применения антибиотиков курсом 7 дней. Бактериологические посева проб паренхиматозных органов рыб проводили на питательные и дифференциально-диагностические среды.

Новизна заключается в отработке схемы применения для рыб комплекса новых для аквакультуры антибиотиков.

Результаты: представлены результаты по оценке терапевтического действия антибиотиков «Левифлоксацин» + «Хлортетрациклин» при лечении бактериальной геморрагической септицемии. Отмечено прекращение гибели рыб на следующий день после начала терапии. Получены положительные результаты у карпа — при сочетании левифлоксацина в дозировке 1000 мг/кг икhtiомассы и хлортетрациклина — 100 мг/кг икhtiомассы, у гибрида СО×К — 500 мг/кг икhtiомассы левифлоксацина + 200 мг/кг икhtiомассы хлортетрациклина. Оценка их комбинаций с разными дозировками не показала 100%-ного эффекта. Выявлены трудности терапии, которые связаны с распространением штаммов микроорганизмов, устойчивых к антибактериальным препаратам.

Практическая значимость: разработанный способ терапии является эффективным, позволяет снизить ущерб от заболевания и может быть рекомендован при разработке мер борьбы с бактериальной геморрагической септицемией у рыб в аквакультуре.

Ключевые слова: антибиотики, аквакультура, бактериальная геморрагическая септицемия, дозировки, левифлоксацин, хлортетрациклин, рыбы.

Evaluation of the effectiveness of the use of a complex of antibacterial drugs for the treatment of bacterial hemorrhagic septicemia in fish

Natalija N. Romanova, Aleksey V. Myshkin, Yuliya P. Shchelkunova, Svetlana B. Tokareva, Olga V. Sekhina, Pavel V. Kudinov

Branch for the freshwater fisheries of «VNIRO» («VNIIPRH»), 40 A, v. Rybnoe, Moscow reg., 141821, Russia

The aim of the study was to develop therapeutic measures to combat bacterial hemorrhagic septicemia of fish using a complex of antibacterial drugs “Levofloxacin” and “Chlortetracycline”.

Methods used: experiments were carried out in aquarium conditions on juvenile carp and hybrids «Siberian sturgeon×Kaluga» (hereinafter hybrid SO×K) infected with a mixed culture of pathogens: highly pathogenic strains of *Aeromonas* sp., strains of R.R. *Acinetobacter* and *Citrobacter*. In the experiment, 2 variants of the use of antibiotics for a course of 7 days were tested. Bacteriological seeding of fish parenchymal organ samples was carried out on nutrient and differential diagnostic media.

Novelty: it consists in working out the scheme of application for fish of a complex of new antibiotics for aquaculture.

Results: the results of the evaluation of the therapeutic effect of antibiotics “Levofloxacin” + “Chlortetracycline” in the treatment of bacterial hemorrhagic septicemia are presented. The cessation of fish death was noted the next day after the start of therapy. Positive results were obtained in carp — with a combination of levofloxacin at a dosage of 1000 mg/kg of ichthyomass and chlortetracycline — 100 mg/kg of ichthyomass, in a hybrid of SO×K — 500 mg/kg of ichthyomass of levofloxacin + 200 mg/kg of ichthyomass of chlortetracycline. Evaluation

of their combinations with different dosages did not show 100% effect. The difficulties of therapy have been identified, which are associated with the spread of strains of microorganisms resistant to antibacterial drugs. **Practical significance:** the developed method of therapy is effective, reduces the damage from the disease and can be recommended when developing measures to combat bacterial hemorrhagic septicemia in fish in aquaculture.

Keywords: antibiotics, aquaculture, bacterial hemorrhagic septicemia, dosages, levofloxacin, chlortetracycline, fish.

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальные инфекции у рыб, выращиваемых в аквакультуре, встречаются часто и приводят в некоторых случаях к значительным потерям молоди, а иногда – товарной продукции и даже производителей [Юхименко, 2021]. Гибель рыб может составить от 5 до 60% от выращиваемого объёма. Применение лечебных средств является необходимым элементом в технологическом процессе. При бактериальных инфекциях в качестве лечебных препаратов, как правило, используют антибиотики [Шульгина и др., 2015]. В медицине и ветеринарии спектр возможных для терапии антибиотиков весьма широкий.

В отечественной аквакультуре известно 20 антибиотиков и 9 препаратов нитрофуранового ряда, которые применяли при терапии бактериальных заболеваний [Головин и др., 2005]. При выращивании рыб в последние годы Роспотребнадзор, контролирующий качество рыбной продукции, ужесточил применение лекарственных средств.¹ Это стало большой проблемой для многих рыбоводных предприятий.

В настоящее время в России в Реестре лекарственных средств, разрешённых к использованию для рыб в аквакультуре, внесён только один антибиотик «Антибак» (содержащий ципрофлоксацин гидрохлорид) в двух формах: Антибак 500 – для парентерального применения (ванны) и Антибак 100 – для орального применения (с кормом).² Такой подход резко сокращает возможность проведения эффективного лечения бактериальных заболеваний. При частом использовании одного и того же антибиотика появляются бактерии, устойчивые к нему. В связи со сложившейся ситуацией задача подбора эффективных антибиотиков для аквакультуры весьма актуальна.

За рубежом управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) одобрено пять препаратов для использования в аквакультуре, если содержание остатков в рыбной продукции меньше установленного максимального предела: флорфеникол, сульфамеразин, хориониче-

ский гонадотропин, окситетрациклина дигидрат, окситетрациклина гидрохлорид, а также комбинацию препаратов сульфадиметоксина и орметоприма.³

К вопросу выбора эффективных антибиотиков мы подошли с научно-обоснованной позиции, проведя определение чувствительности выделенных от рыбы вирулентных бактерий к доступным в России антибактериальным препаратам.

Эпизоотическая ситуация в связи с увеличением объёмов воспроизводства рыбопосадочного материала и выращивания рыбной продукции не стабильна. Из бактериальных инфекций у рыб на первом месте находится полиэтиологическое заболевание – бактериальная геморрагическая септицемия (БГС), вызываемая аэромонадами, псевдомонадами, энтеробактериями, флавобактериями [Юхименко, 2021]. Выраженной агрессивностью обладают комплексы высоковирулентных аэромонад с различными видами энтеробактерий, преимущественно – бактерий группы кишечной палочки, в т. ч. *Escherichia coli* бактериями родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* и неферментирующими щелочеобразующими грамотрицательными бактериями родов *Acinetobacter*, *Moraxella*.

Отдельные ассоциированные штаммы возбудителей БГС, как правило, обладают различной чувствительностью к действию антибактериальных препаратов, что приводит к сложности в выборе антибиотика для терапии БГС. Поэтому определение чувствительности бактерий к действию антибиотиков является первоочередной мерой для успешного лечения бактериозов. При подборе антибиотиков для расширения спектра, возможных для применения в аквакультуре, в 2020–2021 гг. нами были проведены исследования чувствительности выделенных штаммов бактерий к ряду антибиотиков, применяемых в ветеринарии и медицине. По результатам антибиотикограмм были получены эффективные результаты по левофлоксацину.

В 2022 г. первые работы были проведены по оценке нового для аквакультуры антибиотика «Левофлоксацин» на рыбах [Романова и др., 2022]. При терапии БГС, воспроизведённой в экспериментальных

¹ https://irena.vetrif.ru/irena/operatorui?_action=clearRegListMedicine

² https://en.wikipedia.org/wiki/Antimicrobials_in_aquaculture

³ https://en.wikipedia.org/wiki/Antimicrobials_in_aquaculture

условиях, выявили высокую чувствительность у аэромонад и цитробактеров, ацинетобактерии же оказались устойчивы к действию левофлоксацина, что привело к необходимости продолжения работ.

Для лечения полиэтилогических бактериальных инфекций вариантом терапии может стать использование комплекса антибактериальных препаратов. При сочетанном применении нескольких антибиотиков с различным механизмом действия получают более надёжные результаты.

Цель исследования – разработать терапевтические меры борьбы с бактериальной геморрагической септициемией рыб с использованием комплекса антибактериальных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первый этап работ заключался в подборе эффективных антибиотиков для терапии БГС у рыб. С этой целью провели лабораторные исследования по оценке чувствительности бактерий к антибиотикам. Были использованы наиболее часто встречающиеся, обладающие вирулентностью микроорганизмы, относящиеся к сем. *Vibrionaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Moraxellaceae*, *Staphylococcaceae*, *Shewanellaceae*, которые могут вызывать заболевания у рыб.

В лабораторных исследованиях были использованы 87 штаммов вирулентных и высоковирулентных бактерий, относящихся к 6 родам: *Aeromonas* – 48 штаммов (с зоной ДНК-зной активности от 1,0 мм до 8,0 мм), *Staphylococcus* – 3 штамма, *Acinetobacter* – 19 штаммов, *Shewanella* и *Citrobacter* по 5 штаммов, *Moraxella* – 3 штамма и условно-патогенная группа – бактерии группы кишечной палочки (БГКП) – 4 штамма, которые были выделены из паренхиматозных органов (печени и почек) осетровых, карповых, сиговых и сомовых рыб с клиническими признаками бактериального заболевания и без них, а также из среды их обитания (воды).

У выделенных культур определяли чувствительность к антибиотикам методом диффузии в агар с помощью индикаторных дисков.⁴

При диаметре зон задержки роста от 0 до 15 мм считали, что бактерии являются устойчивыми и слабо чувствительными (резистентными) к этому антибиотику, при диаметре зон от 15 до 20 мм – умеренно чувствительными, при диаметре более 20 мм – чувствительными.

В экспериментах были использованы 15 антибиотиков: левофлоксацин (5 мкг), тетрациклин (30 мкг), тикарциллин/клавулановая кислота (75 мкг/10 мкг),

амоксиклав (30 мкг), амоксициллин (10 мкг и 30 мкг), канамицин (30 мкг), хлорамфеникол (левомицетин) (30 мкг), метронидазол (5 мкг), амикацин (30 мкг), фуразолидон (300 мкг), имипенем (10 мкг), энрофлоксацин (5 мкг), окситетрациклин (30 мкг), имипенем/циластин (10 мкг /10 мкг), хлортетрациклин (30 мкг). Концентрации препаратов для исследования были использованы в соответствии с выпускаемыми стандартами индикаторными дисками, которые содержали эффективные (в медицине и ветеринарии) при бактериальных инфекциях концентрации.

Экспериментальные работы по оценке эффективности антибактериальных препаратов «Левофлоксацин» и «Хлортетрациклин» для лечения БГС проводили на годовиках карпа (средняя масса 29,7 г) и гибрида сибирского осётра с калугой (далее – СО×К; 31,7 г) после предварительной адаптации к условиям содержания в течение 14 дней и свободных от бактериальных инфекций по результатам бактериологического анализа [Головина и др., 2016].

Во время проведения эксперимента температура воды в аквариумах с опытными и контрольными группами рыб составляла 18,0 °С – 21,0 °С, содержание растворённого кислорода – 6,9–8,1 мг/л. Для оценки водной среды на бактериальные контаминанты провели бактериологический анализ⁵. Для кормления использовали экструдированные производственные корма для карповых и осетровых видов рыб при суточной норме 2% от массы рыбы.

Дозировки антибиотиков были взяты из рекомендованных в медицине для левофлоксацина и в ветеринарии для хлортетрациклина и пересчитанные на килограмм ихтиомассы рыбы. Схема эксперимента представлена на рис. 1.

Заражение рыб смешанной культурой штаммов возбудителей БГС (высоковирулентные *Aeromonas* sp. с ДНКазной активностью 8,0 мм ширины зоны деполимеризации ДНК, *Acinetobacter* sp. и *Citrobacter* sp.) проводили методом внутрибрюшинной инъекции в количестве 0,2 мл/экз. (рис. 2). Рыбам в группе отрицательного контроля К (–) вводили внутрибрюшинно такое же количество стерильного питательного бульона [Головина и др. 2016].

Внесение левофлоксацина и хлортетрациклина в корм осуществляли орошением разовой порции водной суспензией препарата, приготовленной непосредственно перед кормлением и выдержанной в течение 10–15 мин. для пропитывания корма.

Лечение антибиотиками «Левофлоксацин» + «Хлортетрациклин» карпа из опытных групп начали на 4-е сутки после заражения. Курс терапии составил 7 дней. Лечение опытных групп у гибрида СО×К начали на 2-е

⁴ <https://docs.cntd.ru/document/1200038583>

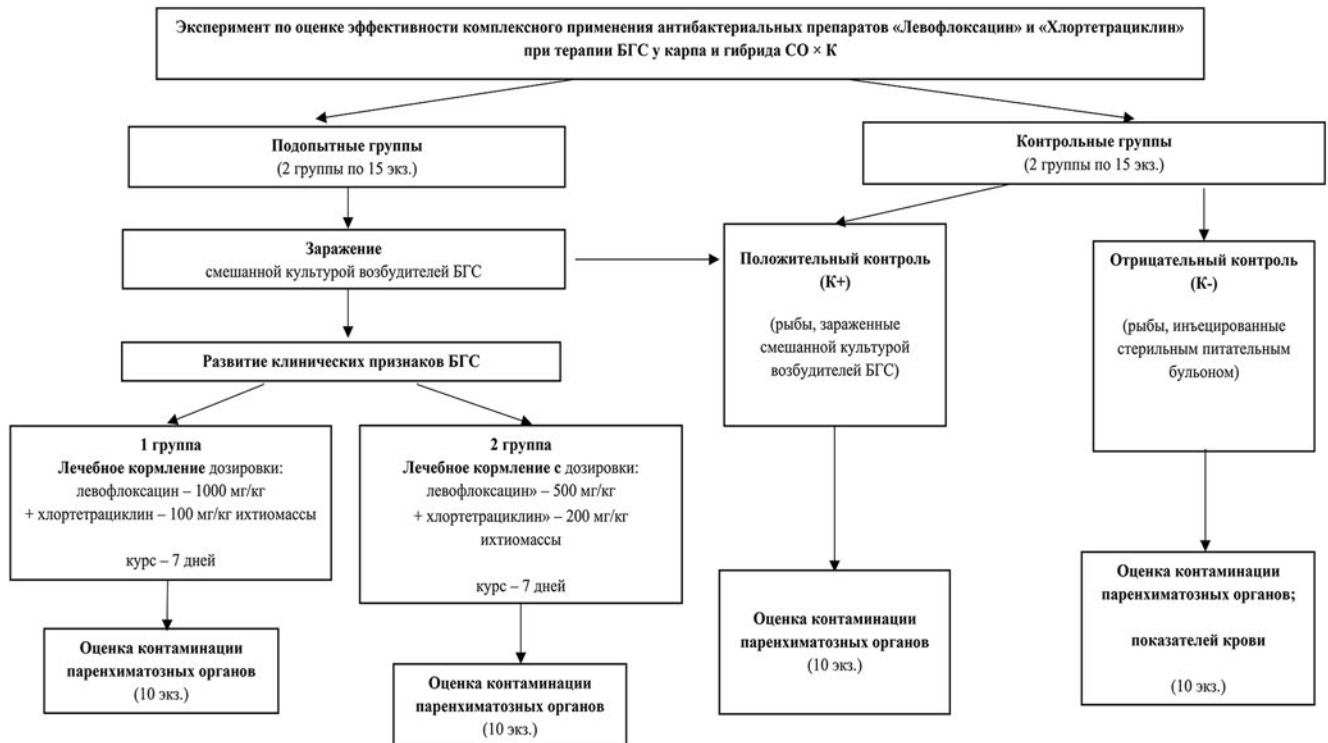


Рис. 1. Схема эксперимента по оценке эффективности комплексного применения антибактериальных препаратов «Левифлоксацин» и «Хлортетрациклин» при терапии БГС у карпа и гибрида СО×К

Fig. 1. Scheme of an experiment to evaluate the effectiveness of the complex use of antibacterial drugs «Levofloxacin» and «Chlortetracycline» in the treatment of BGS in carp and hybrid Siberian sturgeon × Kaluga



Рис. 2. Введение смешанной культуры возбудителей БГС рыбам

Fig. 2. Introduction of mixed culture of BGS pathogens to fish

сутки после заражения. Курс терапии составил также 7 дней. Бактериологическому исследованию после проведения курса лечения было подвергнуто 80 проб parenchymatous органов (печень, почки) от 40 рыб.

Первичные посевы проб проводили классическим методом на питательные и дифференциально-диагностические среды: эритритагар – для определения уровня бактериальной контаминации; Эндо – для определения присутствия энтеробактерий, аэромонад и неферментирующих щелочеобразующих бактерий [Головина и др., 2016].

При проведении экспериментальных работ и исследовании патологического материала соблюдали правила биологической безопасности при осуществлении работ с использованием патогенных биологических агентов (ПБА). Работы с патогенами проводили в боксе микробиологической безопасности (БМБ) II класса в условиях, исключающих заражение оператора, контаминацию лабораторных помещений и обеспечивающих защиту от внешней контаминации исследуемого материала.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам проверки штаммов бактерий, вызывающих БГС у рыб, на чувствительность к антибио-

тикам была выявлена наибольшая чувствительность к 11 препаратам: левофлоксацин, тикарциллин/клавулановая кислота, амоксиклав, амоксициллин, канамицин, хлорамфеникол (левомецетин), амикацин, имипенем, энрофлоксацин, имипенем/циластин, хлортетрациклин.

К 4 испытуемым антибиотикам – тетрациклину, метронидазолу, фуразолидону и окситетрациклину используемые в исследовании бактерии оказались устойчивыми.

Проведённые лабораторные исследования по подбору эффективных антибиотиков против возбудителей БГС у рыб выявили наиболее эффективный препарат против большинства бактериальных возбудителей – левофлоксацин, но он был слабым против ацинетобактеров, которые часто присутствуют в микробиоценозе паренхиматозных органов рыб при бактериозах.

Анализ показал, что у 100% штаммов *Acinetobacter calcoaceticus* и у 83,3% штаммов *Acinetobacter baumannii* отмечена чувствительность к хлортетрациклину. Поэтому в качестве второго антибиотика, к которому отмечена высокая чувствительность, был взят хлортетрациклин. Левофлоксацин является синтетическим антибактериальным препаратом широкого спектра действия из группы фторхинолонов, хлортетрациклин – антибиотиком группы тетрациклинов. Эти два препарата ранее одновременно на рыбах не применяли. Левофлоксацин используют в медицине [Кунделеков и др., 2018], хлортетрациклин – в ветеринарии.⁵

Следующим этапом работ являлись экспериментальные исследования терапевтического действия комплекса левофлоксацин + хлортетрациклин на рыбах.

Оценка действия комплекса антибактериальных препаратов на карпа при терапии БГС

Перед экспериментальными работами был проведён бактериологический анализ поступающей воды в аквариумы. По результатам анализа общее микробное число в поступающей воде в аквариумы составило 60 КОЕ/мл. В микробиоценозе водной среды присутствовали *Aeromonas* sp., *A. baumannii*, *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas* sp., *Moraxella* sp., бактерии группы кишечной палочки (БГКП), сапрофиты.

Первые признаки заболевания после заражения смешанной культурой возбудителей БГС у карпа от-

мечены на вторые сутки у 20% рыб и на третьи сутки у 75% подопытных рыб и рыб из группы положительного контроля. Клинические признаки проявились в виде припухлостей, экзофтальма, гиперемии и изъязвлений на боковой поверхности тела (рис. 3).

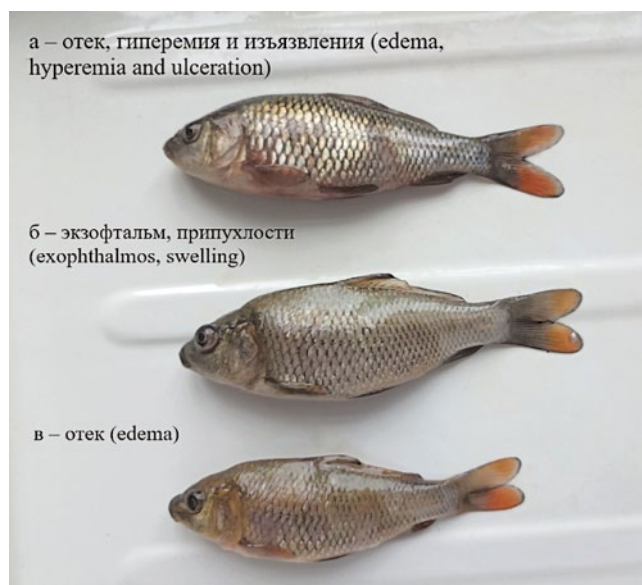


Рис. 3. Клинические признаки БГС у экспериментально зараженного карпа: а – отек, гиперемия и изъязвления; б – экзофтальм, припухлости; в – отек

Fig. 3. Clinical signs of BGS in experimentally infected carp: а – edema, hyperemia and ulceration; б – exophthalmos, swelling; в – edema

После заражения до начала лечебного кормления гибель рыб была в опытной группе № 2 и после начала терапии гибель прекратилась. В контрольной группе (К+) за весь период эксперимента гибель составила 40% (табл. 1).

После проведения лечения от 10 рыб из каждой опытной группы и контрольных групп провели посевы проб печени и почек для определения уровня контаминации и микробиоценоза (табл. 2).

Лучшие результаты были получены при комбинированном применении левофлоксацина 1000 мг/кг рыбы + хлортетрациклина 100 мг/кг в течении 7 дней (группа № 1). В этой группе отмечено больше всего рыб (38%), у которых органы не были контаминированы бактериальной микрофлорой. В подопытной группе № 2 эффект комплексного действия антибиотиков был низкий, что может быть связано с разными факторами, в т. ч. и с устойчивостью бактерий (БГКП, *Moraxella* sp., *Citrobacter* sp., *Acinetobacter* sp.) к антибиотикам и менее удачной дозировкой препаратов.

У рыб из группы контроль К (-) были выделены бактерии группы кишечной палочки, которые мог-

⁵ <https://www.vidal.ru/veterinar/khlortetratsiklin-20-poroshok-29570>

Таблица 1. Гибель карпа во время эксперимента
 Table 1. Death of carp during the experiment

Группы	Гибель рыб, %		
	до лечения	во время лечения	за весь период эксперимента
Опытная группа № 1	0	0	0
Опытная группа № 2	20	0	20
Положительный контроль (К+)	14	26	40
Отрицательный контроль (К-)	0	0	0

Таблица 2. Контаминация внутренних органов подопытных рыб после применения комплекса бактериальных препаратов
 Table 2. Contamination of the internal organs of experimental fish after the use of a complex of bacterial preparations

Группа рыб / препараты левофлоксацин + хлортетрациклин	Контаминация бактериями внутренних органов (рост колоний на средах), % рыб				Состав бактерий (микробиоценоз) (% рыб с контаминацией)
	роста нет	Единичный (от 0 до 10 КОЕ)	умеренный (от 11 до 100 КОЕ)	обильный (более 100 КОЕ)	
Опытная группа № 1 1000 мг/кг + 100 мг/кг рыбы	38,0	62,0	0	0	БГКП* (62,0)
Опытная группа № 2 500 мг/кг + 200 мг/кг рыбы	11,0	67,0	11,0	11,0	БГКП (33,3), <i>Moraxella</i> sp. (22,2), <i>Citrobacter</i> sp. (33,3), <i>Acinetobacter</i> sp. (22,2)
Контроль К (+)	20,0	20,0	20,0	40,0	<i>Citrobacter</i> sp. (30,0), <i>Aeromonas</i> sp. (40,0), БГКП (20), <i>Acinetobacter</i> sp. (30,0)
Контроль К (-)	60,0	40,0	0	0	БГКП (40,0)

Примечание: * БГКП – бактерии группы кишечной палочки.

ли попасть из воды (т. к. в воде эта группа бактерий присутствовала по результатам бактериологического анализа воды, проведённого в начале эксперимента) в рыбу и контаминировать органы, такое характерно при снижении неспецифической резистентности организма. Изначально была взята рыба, свободная от бактериальных агентов, но в течение опыта среда обитания (вода), со своим микробиоценозом оказала влияние на организм рыб. Кроме того, в подопытной группе № 2 были выявлены моракселлы (*Moraxella* sp.), что также, вероятно, является результатом проникновения из воды. К снижению неспецифической резистентности у рыб могло привести влияние стресс-фактора – это манипуляции с рыбой при рассадке их на опыт в аквариумы из рыбоводной ёмкости.

Оценка действия комплекса антибактериальных препаратов на гибриде СО×К при терапии БГС

По результатам анализа общее микробное число в поступающей воде в аквариумы составило 300 КОЕ/мл. В микробиоценозе водной среды присутствовали *A. calcoaceticus*, *P. alcaligenes*, *Pseudomonas* sp., БГКП, сапрофиты.

Первые признаки заболевания после заражения смешанной культурой возбудителей БГС у гибрида СО×К были отмечены на вторые сутки у 20% рыб и на третьи сутки – у 75% опытных рыб и у рыб из группы положительного контроля. Клинические признаки проявились в виде гиперемии брюшных жучек и небольших изъязвлений на боковой поверхности тела (рис. 4).

После заражения до начала лечебного кормления гибель рыб была в подопытных группах № 1 и № 2 и контрольной группе (К+). После начала терапии гибель в подопытных группах прекратилась, но в контрольной группе (К+) продолжалась и в течение опыта составила 30% (табл. 3).

После проведения лечения от 10 рыб из каждой опытной группы и контрольных групп провели посевы проб печени и почек для определения уровня контаминации и микробиоценоза (табл. 4).

Положительные результаты были получены при комплексном применении левофлоксацина 500 мг/кг рыбы + хлортетрациклина 200 мг/кг в течении 7 дней в опытной группе № 2. В этой группе отмечено больше всего рыб (60%), у которых органы не были контаминированы бактериальной микрофлорой. В опытной

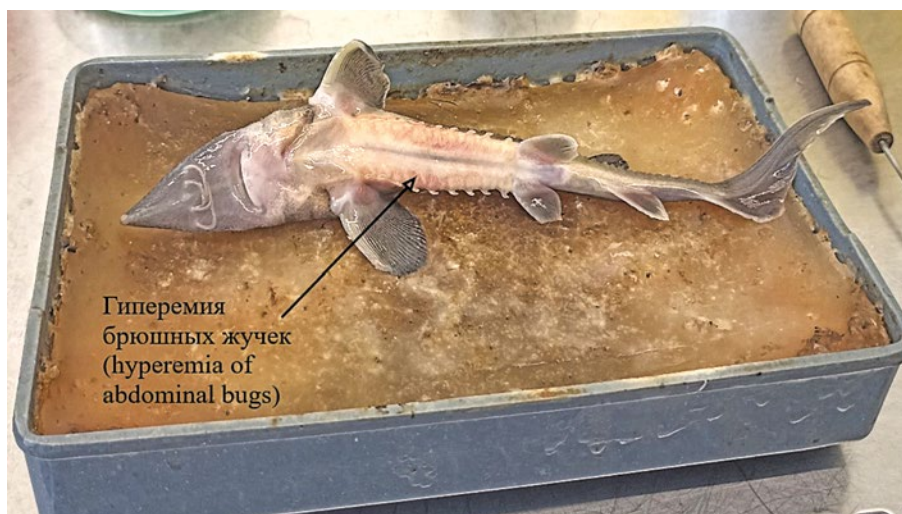


Рис. 4. Клинические признаки БГС у экспериментально заражённого гибрида СО×К
 Fig. 4. Clinical signs of BGS in an experimentally infected hybrid CO×K

Таблица 3. Гибель гибрида СО×К во время эксперимента
 Table 3. Death of the COxK hybrid during the experiment

Группы	Гибель рыб, %		
	до лечения	во время лечения	за весь период эксперимента
Опытная группа № 1	7	0	7
Опытная группа № 2	14	0	14
Положительный контроль (К+)	7	23	30
Отрицательный контроль (К-)	0	0	0

Таблица 4. Контаминация внутренних органов подопытных рыб после применения комплекса бактериальных препаратов
 Table 4. Contamination of the internal organs of experimental fish after the use of a complex of bacterial preparations

Группа рыб/ препараты левофлоксацин +хлортетрацилин	Контаминация бактериями внутренних органов (рост колоний на средах), % рыб				Состав бактерий – микробиоценоз (% рыб с контаминацией)
	роста нет	единичный (от 0 до 10 КОЕ)	умеренный (от 11 до 100 КОЕ)	Обильный (более 100 КОЕ)	
Опытная группа № 1 1000 мг/кг +100 мг/кг рыбы	30,0	70,0	0	0	<i>Citrobacter</i> sp. (20), сапрофиты (20), <i>Pseudomonas</i> sp. (10), <i>Acinetobacter</i> sp. (30)
Опытная группа № 2 500 мг/кг + 200 мг/кг рыбы	60,0	40,0	0	0	сапрофиты (30), <i>Acinetobacter</i> sp. (10), <i>Citrobacter</i> sp. (20)
Контроль К (+)	10,0	90,0	0	0	<i>Acinetobacter</i> sp. (30), сапрофиты (60), <i>Aeromonas</i> sp. (30), <i>Citrobacter</i> sp. (50), БГКП (10)
Контроль К (-)	50,0	50,0	0	0	<i>Ac. baumannii</i> сапрофиты <i>Acinetobacter</i> sp.

группе № 1 эффект комбинированного действия антибиотиков был ниже. Так же, как и в опыте на карпе, в микробиоценозе паренхиматозных органов гибрида СО×К встречались бактерии, которые присутствовали в водной среде.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проблема подбора антибиотиков для терапии бактериозов у рыб в аквакультуре актуальна и практически сложно решается. Проведённые исследования позволят расширить возможности при подборе эффективного лечения бактериальной геморрагической септицемии у рыб.

В нашей работе из 15 использованных в лабораторных исследованиях антибиотиков к 11 была выявлена высокая чувствительность. Из них мы выбирали антибиотики широкого спектра действия, так как БГС является полиэтиологическим заболеванием. Кроме того, учитывали способ введения в организм. Для рыбоводов наиболее удобным способом лечения является скармливание лечебного корма. В связи с перечисленными особенностями нами был выделен левофлоксацин, но он не показал 100% эффективности при БГС. После проведённого лечения остались сложно поддающиеся антибиотикотерапии ацинетобактерии, что привело нас к комплексному подходу лечения этого заболевания. Анализ антибиотикограмм показал, что наиболее чувствительна эта группа бактерий к хлортетрациклину.

Хлортетрациклин ранее использовался в рыбоводстве в препарате «Биовит» вместе с витамином В₁₂ (биомициново-витаминный комплекс). Этот препарат применяли при бактериальных заболеваниях у рыб.

Наши результаты показали, что применение комплекса антибиотиков «Левофлоксацин» и «Хлортетрациклин» при терапии БГС у карпа и гибрида СО×К не привело к 100%-ному эффекту. У карпа после терапии при дозировке 1000 мг/кг ихтиомассы левофлоксацина + 100 мг/кг ихтиомассы хлортетрациклина у 38% рыб внутренние органы были свободны от бактериальной контаминации. У 60% особей гибрида СО×К при использовании 500 мг/кг ихтиомассы левофлоксацина + 200 мг/кг ихтиомассы хлортетрациклина внутренние органы не были контаминированы внесёнными возбудителями. Поэтому эти дозировки были приняты как эффективные.

В ходе наших исследований было установлено, что после применения комплекса «левофлоксацин + хлортетрациклин» у 62% карпа и 40% гибрида СО×К отмечался преимущественно единичный рост бактериальной микрофлоры во внутренних органах. Преимуществом являлось, что на следующий день после

начала курса лечения прекращалась гибель рыб. Разработанный способ терапии БГС можно рассматривать, как эффективный и позволяющий снизить ущерб от заболевания.

Вероятно, трудности терапии связаны с распространением штаммов микроорганизмов, устойчивых к антибактериальным препаратам. Развитие резистентности к антибиотикам является результатом мутаций в популяции бактерий и появления устойчивости у отдельных их представителей. Устойчивые бактерии способны к размножению в присутствии терапевтических концентраций препарата [Гаврилин и др., 2016].

Формирование резистентных штаммов у аэромонад, псевдомонад, флавобактерий, миксобактерий и других бактерий приводит к снижению эффективности терапии антибиотиками бактериальных заболеваний рыб [Kruse et al., 1995; Юхименко и др., 2005; Duran, Marshall, 2005; Lee et al., 2005; Orozova et al., 2010; Gullberg et al., 2011; Ferri, Lauteri C, Vergara, 2022].

При проведении антибиотикотерапии необходимо учитывать, что при частом нерациональном использовании лекарственных препаратов существует опасность широкого и быстрого появления приобретённой устойчивости микроорганизмов в среде обитания, вследствие чего антибиотики, которые были эффективными при предыдущих случаях применения, в дальнейшем могут оказаться ненадёжными.

Применение для лечения инфекций препаратов, к которым отмечена низкая чувствительность или резистентность, не приводит к гибели возбудителей заболевания, а может способствовать уничтожению других микроорганизмов, в т. ч. представителей нормальной флоры, которые сохраняют чувствительность к антибиотику. Это даёт возможность устойчивым видам и штаммам, заняв освободившиеся экологические ниши в организме [Данилевская, 2010].

С учётом проблемы возрастающей резистентности бактерий к антибиотикам целесообразно определять чувствительность выделенных штаммов возбудителей. При вспышке бактериального заболевания, чтобы была возможность снизить ущерб от заболевания, возможно применение разработанных схем терапии.

В связи с трудностями проведения эффективной антибиотикотерапии при БГС у рыб в комплекс мероприятий при терапии входит выполнение ветеринарно-санитарных требований: контроль за перевозками рыбопосадочного материала, дезинфекция рыбоводного инвентаря, а также по необходимости проводить дезинфекцию воды. Часто именно бактериальный фон воды является причиной контаминации внутренних органов, особенно рыб, имеющих низкий

иммунофизиологический статус. Необходимо осуществлять мониторинг микробиологического загрязнения воды, в которой выращиваются рыбы, и взаимодействие с ветеринарными специалистами и ихтиопатологами для получения своевременных рекомендаций по улучшению состояния среды обитания. Дезинфекцию воды рекомендуем проводить в рыбоводных хозяйствах разного типа (прудовые и промышленные) в том случае, когда по результатам бактериологического анализа воды установлено, что общее микробное число превышает 3000 КОЕ/мл (это предельно допустимое значение установлено по данным многолетних наших исследований) и присутствуют патогенные для рыб бактерии.

Эффективная схема терапии предполагает, наряду с другими мероприятиями, использование комплекса эффективных антибактериальных препаратов в сочетании с пробиотиком. Это позволяет вытеснить патогенную микрофлору, и, кроме того, лечение должно сопровождаться стимуляцией факторов неспецифического иммунитета [Юхименко, 2019; Чижаяева и др., 2021; Сизенцов и др., 2023].

Важным звеном в технологическом процессе выращивания рыб является регулярное ихтиопатологическое обследование, что позволяет вовремя оценить эпизоотическую ситуацию и разработать оздоровительные мероприятия.

Обнаруженные трудности терапии полиэтиологических бактериальных инфекций у рыб заключаются в проявлении различной чувствительности бактерий к антибиотикам. В связи с этим в некоторых случаях медикаментозные подходы должны быть переориентированы на экологически безопасные методы, например, фаготерапию [Liu et al., 2022].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение высокоэффективных антибактериальных препаратов в соответствии с рекомендуемыми принципами рациональной антибиотикотерапии позволяет получать хорошие результаты при лечении бактериальных инфекций, уменьшая вероятность появления резистентных форм и снижая гибель рыб от заболеваний. Основными принципами являются постановка диагноза, выбор наиболее эффективного антибиотика или сочетаний антибиотиков, метода введения, а также определение терапевтической дозы, интервалов между введениями и продолжительность лечения.

При терапии БГС у карпа была эффективна комбинация левофлоксацина в дозировке 1000 мг/кг ихтиомассы и хлортетрациклина — 100 мг/кг ихтиомассы, у осетровых рыб — 500 мг/кг ихтиомассы левофлоксацина + 200 мг/кг ихтиомассы хлортетрациклина.

Антибиотики вносят в комбикорм, продолжительность лечения составляет 7 дней. Комплексное лечение двумя антибиотиками позволило снизить гибель рыб в 2 раза. После проведенной антибиотикотерапии рекомендовано проведение курса кормления с пробиотиком и иммуностимулирующими средствами для повышения иммунитета. Несоблюдение основных положений рациональной антибиотикотерапии и требований ветеринарно-санитарных правил может привести к резкому снижению или отсутствию лечебного эффекта.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю признательность и благодарность коллегам, участвовавшим в подготовке и осуществлении эксперимента, Л.Н. Юхименко, П.П. Головину, Т.А. Михайловой.

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

- Гаврилин К.В., Ридигер А.В., Пономарев А.К. 2016. Рациональная химиотерапия бактериозов рыб в российской аквакультуре // Символ науки. № 2. С. 21–26.
- Головин П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н. 2005. Кадастр лечебных препаратов, используемых и апробированных в аквакультуре России и за рубежом. М.: Росинформгротех. С. 56.
- Головина Н.А., Авдеева Е.В., Евдокимова Е.Б., Казимирченко О.В., Котлярчук М.Ю. 2016. Практикум по ихтиопатологии. М.: Моркнига. 417 с.
- Данилевская Н.В. 2010. Особенности применения антибиотиков в ветеринарной практике // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. № 3 (7). С. 37–41.
- Кунделеков А.Г., Нефёдов П.В., Колычева С.С. 2018. Левофлоксацин в медицинской практике // Современные проблемы науки и образования. № 5.
- Романова Н.Н., Юхименко Л.Н., Вараксина В.В., Токарева С.Б., Сафронова А.С., Сехина О.В. 2022. Применение препаратов «Левофлоксацин» и «СУБ-ПРО» при терапии бактериальной геморрагической септицемии у карповых рыб // Труды ВНИРО. Т. 190. С. 116–124.

- Сизенцов А.Н., Мирошникова Е.П., Аринжанов А.Е., Кулякова Ю.В. 2023. Повышение пищевых характеристик рыбы с использованием фитобиотиков и пробиотиков в кормлении (обзор) // *Аграрный вестник Урала*. № 03 (232). С. 52-63. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-232-03-52-63.
- Чижаева А.В., Олейникова Е.А., Амангелды А.А., Алыбаева А.Ж. 2021. Преимущества использования пробиотиков на основе молочнокислых бактерий в аквакультуре // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. № 9. С. 12–16.
- Шульгина Л.В., Якуш Е.В., Шульгин Ю.П., Шендерюк В.В., Чукалова Н.Н., Бахолдина Л.П. 2015. Антибиотики в объектах аквакультуры и их экологическая значимость. Обзор // *Известия ТИПРО*. Т. 181. С. 216–230.
- Юхименко Л.Н. 2022. Аэромоноз, бактериальная геморрагическая септицемия рыб и способы их профилактики. Автореф. дисс. ... док. вет. наук. М.: МГАВМиБ – МВА им. К.И. Скрябина. 43 с.
- Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И., Дружинина А.А., Романова Н.Н. 2019. Пробиотики в аквакультуре // *Сб. науч. трудов ВНИИПРХ*. Вып. 90. С. 17–31.
- Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И., Гаврилин К.В., Трифонова Е.С. 2005. Проблема экологической безопасности лечебных и профилактических мероприятий в рыбоводстве // *Междунар. науч.-практ. конф. «Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности»*. Материалы. 11–13 апр. 2005 г. М.: ГНУ ВНИИР. Т. 2. С. 344–347.
- Duran G.M., Marshall D.L. 2005. Ready-to-eat shrimp as an international vehicle of antibiotic-resistant bacteria // *J. of Food Protection*. V. 68. № 11. P. 2395–2401.
- Ferri G., Lauteri C., Vergara A. 2022. Antibiotic Resistance in the Finfish Aquaculture Industry: A Review // *Antibiotics*. 11 (11). 1574 p. DOI: 10.3390/antibiotics11111574.
- Gullberg E., Cao S., Berg O.G., Ilbäck C., Sandegren L., Hughes D., Andersson D.I. 2011. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations // *PLoS Pathog*. Vol. 7. P. 1002–1158.
- Kruse H., Sørum H., Tenover F.C., Olsvik Ø. 1995. A transferable multiple drug resistance plasmid from *Vibrio cholerae* O1 // *Microb. Drug Res.* Vol. 1. P. 203–210.
- Lee T.S., Munekage Y., Kato S. 2005. Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas // *Sci Total Environ*. V. 349. P. 95–105.
- Liu R., Han G., Li Z., Cun S., Hao B., Zhang J., Liu X. 2022. Bacteriophage therapy in aquaculture: current status and future challenges // *Folia Microbiol.* 67(4). P. 573–590. DOI: 10.1007/s12223-022-00965-6.
- Orozova P., Chikova V., Najdenski H. 2010. Antibiotic resistance of pathogenic for fish isolates of *Aeromonas* spp. // *Bulgarian J. of Agricultural Science*. V. 16. № 3. P. 376–386.
- Russia and abroad. Moscow: Rosinformagrotech. P. 56. (In Russ.).
- Golovina N.A., Avdeeva E.V., Evdokimova E.B., Kazimirchenko O.V., Kotlyarchuk M. Yu. 2016. Workshop on ichthyopathology. Moscow: Morkniga. 417 p. (in Russ.).
- Danilevskaya N.V. 2010. Features of the use of antibiotics in veterinary practice // *Aktual'nye voprosy veterinarnoj biologii*. № 3 (7). P. 37–41. (In Russ.).
- Kundelekov A.G., Nefedov P.V., Kolycheva S.S. 2018. Lefokcin in medical practice // *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. № 5. (In Russ.).
- Romanova N.N., Yukhimenko L.N., Varaksina V.V., Tokareva S.B., Safronova A.S., Sekhina O.V. 2022. The use of drugs «Levofloxacin» and «SUB-PRO» in the treatment of bacterial hemorrhagic septicemia in cyprinid fish // *Trudy VNIRO*. V.190. P. 116–124. (In Russ.).
- Sizentsov A.N., Miroshnikova E.P., Arinzhonov A.E., Kilyakova Yu.V. 2023. Improving the nutritional characteristics of fish using phytobiotics and probiotics in feeding (review) // *Agrarnyj vestnik Urala*. № 03 (232). P. 52–63. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-232-03-52-63. (In Russ.).
- Chizhaeva A.V., Oleinikova E.A., Amangeldy A.A., Alybaeva A.J. 2021. Advantages of using probiotics based on lactic acid bacteria in aquaculture // *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. № 9. P. 12–16. (In Russ.).
- Shulgina L.V., Yakush E.V., Shulgin Yu.P., Shenderyuk V.V., Chukalova N.N., Bakholdina L.P. 2015. Antibiotics in aquaculture facilities and their ecological significance. Review // *Izvestiya TINRO*. V. 181. P. 216–230. (In Russ.).
- Yukhimenko L.N. 2021. Aeromonosis, bacterial hemorrhagic septicemia of fish and methods of their prevention. Abstr. diss. Doctor of Sciences in Veterinary. Moscow: MSAVMB – K.I. Skryabin MVA. 43 p. (In Russ.).
- Yukhimenko L.N., Bychkova L.I., Druzhinina A.A., Romanova N.N. 2019. Probiotics in aquaculture // *Sb. nauch. trudov VNIIPRХ*. Iss. 90. P. 17–31. (In Russ.).
- Yukhimenko L.N., Bychkova L.I., Gavrilin K.V., Trifonova E.S. 2005. The problem of ecological safety of therapeutic and preventive measures in fish farming // *International Scientific and Practical Conference «Aquaculture and integrated technologies: problems and opportunities»*. Materials. 11–13 apr. 2005. Moscow: GNU VNIIR. Vol. 2. P. 344–347. (In Russ.).
- Duran G.M., Marshall D.L. 2005. Ready-to-eat shrimp as an international vehicle of antibiotic-resistant bacteria // *J. of Food Protection*. V. 68. № 11. P. 2395–2401.
- Ferri G., Lauteri C., Vergara A. 2022. Antibiotic Resistance in the Finfish Aquaculture Industry: A Review // *Antibiotics*. 11 (11). 1574 p. DOI: 10.3390/antibiotics11111574.
- Gullberg E., Cao S., Berg O.G., Ilbäck C., Sandegren L., Hughes D., Andersson D.I. 2011. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations // *PLoS Pathog*. Vol. 7. P. 1002–1158.
- Kruse H., Sørum H., Tenover F.C., Olsvik Ø. 1995. A transferable multiple drug resistance plasmid from *Vibrio cholerae* O1 // *Microb. Drug Res.* Vol. 1. P. 203–210.

REFERENCES

Gavrilin K.V., Ridiger A.V., Ponomarev A.K. 2016. Rational chemotherapy of fish bacterioses in Russian aquaculture // *Simvol nauki*. № 2. P. 21–26. (In Russ.).

Golovin P.P., Golovina N.A., Romanova N.N. 2005. Inventory of medicinal products used and tested in aquaculture in

Lee T.S., Munkage Y., Kato S. 2005. Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas // *Sci Total Environ.* V. 349. P. 95–105.

Liu R., Han G., Li Z., Cun S., Hao B., Zhang J., Liu X. 2022. Bacteriophage therapy in aquaculture: current status and future challenges // *Folia Microbiol.* 67(4). P. 573–590. DOI: 10.1007/s12223-022-00965-6.

Orozova P., Chikova V., Najdenski H. 2010. Antibiotic resistance of pathogenic for fish isolates of *Aeromonas* spp. // *Bulgarian J. of Agricultural Science.* V. 16. № 3. P. 376–386.

Поступила в редакцию 19.07.2023 г.

Принята после рецензии 13.09.2023 г.