

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«Московская государственная академия ветеринарной медицины и
биотехнологии имени К.И. Скрябина»**

На правах рукописи

Гончарова Маргарита Николаевна

**ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
АНТИБАКА ПРИ АЭРОМОНОЗЕ, ПСЕВДОМОНОЗЕ И
ФЛЕКСИБАКТЕРИОЗЕ РЫБ**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
доктор ветеринарных наук, доцент
Л.И. Грищенко

Москва – 2012

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
I. Обзор литературы.....	7
1. Особенности эпизоотологии бактериальных болезней рыб.....	7
1.1. Аэромоноз карповых рыб.....	7
1.2. Псевдомонозы.....	16
1.3. Миксобактериозы.....	19
2. Применение и эффективность антибактериальных препаратов при бактериальных болезнях рыб.....	24
3. Препараты фторхинолонового ряда и их характеристика.....	31
3.1. Применение фторхинолонов при бактериальных болезнях сельскохозяйственных животных и рыб.....	37
II. Собственные исследования.....	43
1. Материал и методы исследований.....	43
2. Результаты собственных исследований.....	54
2.1. Эпизоотическая ситуация в рыбхозах Московской и Рязанской областей по аэромонозу, псевдомонозу и флексибактериозу.....	54
2.2. Выделение микроорганизмов и чувствительность аэромонад, псевдомонад, флексибактерий к фторхинолонам.....	66
2.3. Фармакокинетика ципрофлоксацина в организме карпов.....	71
2.3.1. Пероральное введение.....	71
2.3.2. Обработка в растворе.....	73
2.3.3. Внутривентральное введение.....	76
2.4. Лечебная эффективность Антибака.....	79
2.5. Профилактическая эффективность Антибака.....	82
2.5.1. Пероральное введение Антибака 100.....	82
2.5.2. Внутривентральное введение Антибака 500.....	89
2.5.3. Обработка в растворе Антибака 500.....	93
2.6. Определение токсичности Антибака.....	95

2.6.1. Внутривбрюшинное введение ципрофлоксацина.....	95
2.6.2. Пероральное введение ципрофлоксацина.....	98
2.6.3. Обработка в растворе Антибака 250.....	103
2.7. Производственные испытания лечебно- профилактической эффективности Антибака.....	104
2.7.1. Производственное испытание Антибака 100 при аэромонозе карпов.....	104
2.7.2. Производственное испытание Антибака 100 и Антибака 250 при флексибактериозе форели и сибирского осетра.....	108
2.8. Экономическая эффективность от применения Антибака 100.....	111
3. Обсуждение полученных результатов.....	114
III. Выводы.....	126
IV. Практическое использование полученных результатов.....	128
V. Рекомендации по использованию полученных результатов.....	128
VI. Список литературы.....	129
VII. Приложения.....	155

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Одним из факторов, сдерживающих развитие аквакультуры, являются инфекционные болезни. Из них широко распространены и наносят большой ущерб в прудовых и индустриальных рыбоводных хозяйствах различных регионов РФ такие бактериальные заболевания, как аэромоноз и псевдомоноз карпов, миксобактериоз форели и осетровых рыб (П. П. Головин и др. 1998; Н. А. Яременко, А. Н. Мачнев, 2000). Борьба с данными болезнями до сих пор остается весьма актуальной проблемой современного рыбоводства. Несмотря на принимаемые меры, включающие широкое применение антибиотиков, нитрофурановых, сульфаниламидных и других лекарственных средств, эпизоотическая обстановка по ним улучшилась незначительно. Это связано не только с недостаточной комплексностью проводимых оздоровительных мероприятий, но и со снижением лечебной эффективности длительно применявшихся препаратов в результате появления резистентных форм патогенных штаммов возбудителей болезней (Н. Shlotfeldt, 1985). Поэтому существует необходимость периодического обновления их ассортимента за счет новых химиотерапевтических средств. К числу наиболее активных препаратов в отношении бактериальных патогенов рыб относится ципрофлоксацин из группы фторхинолонов (J.F.M. Nouws, J.L. Grondel, 1988; R. Palmer et al., 1992). Однако анализ литературных данных показал, что в отличие от человека и теплокровных животных его взаимодействие с организмом рыб практически не изучено. Исходя из этого наиболее актуальным и перспективным является определение основных фармакологических свойств ципрофлоксацина, а также его лечебной эффективности в условиях прудовых и тепловодных рыбоводных хозяйств при бактериальных болезнях рыб различных видов.

Цель и задачи исследований. Цель работы – изучить фармакологические свойства лечебного препарата Антибак и определить перспективы его использования при аэромонозе и псевдомонозе карпов, флексибактериозе форели и осетровых рыб.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить эпизоотическую ситуацию в рыбхозах Московской и Рязанской областей по аэромонозу, псевдомонозу и флексибактериозу и оценить перспективы применения в них препарата Антибак.
2. Определить чувствительность к препарату возбудителей аэромоноза, псевдомоноза и флексибактериоза, выделенных от больных рыб.
3. Изучить особенности фармакокинетики ципрофлоксацина в организме карпов при разных способах введения препарата, определить дозы и схемы применения Антибака.
4. Установить лечебно-профилактическую эффективность основных форм препарата при разных способах его введения в организм карпов.
5. Определить токсические свойства препарата.
6. Провести производственные испытания Антибака при аэромонозе карпов и флексибактериозе молоди форели и осетровых.
7. Разработать научно обоснованные рекомендации по применению Антибака при аэромонозе, псевдомонозе и флексибактериозе рыб.

Научная новизна. Впервые дано научное обоснование использования ципрофлоксацина – действующего вещества препаратов группы Антибак для борьбы с бактериальными болезнями рыб. В экспериментальных и производственных условиях установлена антибактериальная активность, изучены особенности фармакокинетики, токсические свойства препарата, определены терапевтические дозы и схемы его применения. На этой основе доказана высокая лечебно-профилактическая эффективность и безопасность применения Антибака 100 и Антибака 500 при аэромонозе, псевдомонозе и флексибактериозе прудовых рыб.

Практическая значимость. Результаты работы позволили рекомендовать Антибак для лечения и профилактики аэромоноза, псевдомоноза карпов и флексибактериоза форели и осетров. Предложены оптимальные дозы и схемы применения препарата при разных способах введения в организм рыб. Результаты научных исследований включены в Наставление по применению препарата Антибак при бактериальных болезнях рыб (2004 г.), в Инструкции по применению Антибака 100 и Антибака 500 для лечения и профилактики болезней бактериальной этиологии товарных рыб (2007 г.), а также в Рекомендации по борьбе с аэромонозом, псевдомонозом и миксобактериозами рыб с использованием препаратов Антибак (2007 г.).

Положения, выносимые на защиту:

1. Лечебная и профилактическая эффективность препаратов группы Антибак при аэромонозе, псевдомонозе и флексибактериозе рыб и безопасность применения их в рыбоводстве.
2. Особенности фармакокинетики ципрофлоксацина в организме рыб.
3. Терапевтические и безопасные дозы и концентрации Антибака, схемы его применения при бактериальных болезнях рыб.

I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Особенности эпизоотологии бактериальных болезней рыб

Бактериальные болезни рыб являются одним из основных факторов, сдерживающих развитие рыбоводства. Из них наиболее распространены такие заболевания, как аэромоноз (краснуха) и псевдомонозы карповых рыб, фурункулез лососевых, миксобактериозы. В список карантинных и особо опасных болезней рыб внесены аэромонозы карповых и лососевых, миксобактериозы лососевых и осетровых (Приказ Минсельхоза России №173 от 29.09.2005 г.).

Несмотря на то, что в настоящее время в РФ показатели распространенности инфекционных болезней рыб по сравнению с инвазионными относительно невысоки (31%), ущерб от них весьма значительный. Так, по данным ветеринарной отчетности практически не уменьшается количество неблагополучных пунктов по аэромонозу карпов и фурункулезу лососевых, эпизодически проявляются вспышки псевдомоноза, сформировались природные очаги некоторых заболеваний (Н.А. Яременко, А.Н. Мачнев, 2000; Н.А. Яременко, В.В. Селиверстов, 2003; Г.М. Павлович, Г.М. Хотева, 2005).

1.1. Аэромоноз карповых рыб

Аэромоноз (краснуха карпов, геморрагическая септицемия, инфекционная брюшная водянка, люблинская болезнь) – бактериальное заболевание, поражающее, главным образом, карпов, сазанов и их гибридов, а также некоторых других рыб семейства карповых, проявляющееся при остром течении бактериальной септицемией, при подостром течении – асцитно-язвенной и при хроническом – язвенной формой болезни.

Заболевание регистрировалось в Европе еще в XVIII веке. Как эпизоотию краснуху впервые описала М. Плен в 1904 г. (M. Plen). По данным W. Schäperclaus (1979) в 20-е годы XX в. болезнь охватила прудовые хозяйства стран Средней и Восточной Европы, а также стала появляться

среди природного поголовья сазана в низовьях рек, впадающих в Черное море.

В СССР краснуха карпов впервые была завезена в начале 1930-х г. г. с производителями карпа из Германии и затем быстро распространилась по европейской части страны при перевозках рыбы (В.А. Догель и др., 1939). В течение последующих 20 лет болезнь только по РСФСР была обнаружена в 37 рыбоводных хозяйствах, в четырех озерах и пяти водохранилищах с общей площадью акватории в 84,1 тыс. га. Инфекция была также зарегистрирована в хозяйствах Украинской, Латвийской, Литовской, Молдавской, Узбекской, Киргизской и Таджикской ССР (А.К. Щербина, 1972).

В настоящее время аэромоноз также остается основной проблемой в карповых хозяйствах (прудовых, садковых, бассейновых и др.). Наиболее неблагополучным регионом является Московская (неблагополучны 9 рыбхозов), Калужская, Оренбургская, Ростовская области, Краснодарский и Ставропольский края, Республика Северная Осетия-Алания, Хакасия и другие. В них это заболевание регистрируется многие десятилетия и протекает в основном хронически, периодически обостряясь при завозе посадочного материала (М.Н. Борисова и др., 2007; М.В. Калмыков, В.И. Белоусов, 2009).

По поводу этиологии краснухи долгое время не было единой точки зрения, но большинство ученых считало, что возбудителем болезни является бактерия *Aeromonas (Achromobacter) punctata* (W. Schäperclaus, 1930; H. Mann, 1939; H. Dombrowski, 1953; W. Wunder, 1953). Советский ученый А. К. Щербина (1939) полагал, что *A. punctata* всегда можно выделить из пораженных органов рыб, больных краснухой.

Однако при изучении болезни стали накапливаться сведения, что у рыб, больных краснухой, данный возбудитель обнаружить удается не всегда, а бактерии, выделяемые от больных рыб, отличаются большой вариабельностью патогенных свойств. Предположение о вирусной природе

этого заболевания впервые было высказано Г.В. Эпштейном, М.А. Пешковым (1934) и Г.Д. Гончаровым (1949) на основании обнаружения телец-включений в эпидермальных клетках больных рыб.

Позднее В.И. Тецу и Г.С. Яковлевой (1962), Е.Ф. Осадчей (1964), J. Tomášec et al. (1964) удалось обнаружить цитопатогенное действие ультрафильтрата, полученного из тканей больных краснухой карпов, при его действии на культуры клеток почки, сердца, плавников и гонад. Впервые вирус был выделен от карпов с синдромом острой формы инфекционной водянки югославским исследователем N. Fijan et al., (1971), который доказал его этиологическую роль в заболевании и предложил название болезни – весенняя вирусная карпа. Параллельно с этим в нашей стране также был выделен вирус, и заболевание получило наименование «весенняя вирусная болезнь» (Н.И. Рудиков с соавт., 1975).

Дальнейшими углубленными исследованиями, проведенными сотрудниками ВИЭВ, было установлено, что под названием «краснуха карпов» описаны заболевания с различной этиологией, имеющие сходную клиническую картину (К.А. Лобунцов, Н.И. Рудиков, 1972, 1979; К.А. Лобунцов, 1974). На основании этого и было выделено 3 самостоятельных болезни: аэромоназ, вызываемый вирулентными штаммами *Aeromonas hydrophila*; псевдомоназ, вызываемый бактериями из рода *Pseudomonas* и весенняя вирусная болезнь, вызываемая рабдовирусом.

Аэромонады – широко распространенные обитатели воды, которые в природе имеют широкий круг биологических хозяев. Среди них имеются варианты, патогенные для морских и пресноводных рыб, земноводных, пресмыкающихся, а также вызывающие оппортунистические токсикоинфекции у теплокровных животных и человека (Л.Н. Юхименко, В.Ф. Викторова, 1979; Э.К. Скурат, Е.И. Гребнева, 1994; Э.К. Скурат и др., 1995; Н.Н. Андросик и др., 1998).

Аэромонады обладают достаточно высокой устойчивостью и могут сохраняться в воде более 247 дней, а в тканях погибших рыб – до 32 суток

(D.H. Mac-Carthy, 1977). М.П. Бутко с сотрудниками (1974) установили, что *A. punctata* остаются жизнеспособными в рыбе при ее посоле (20 - 25% NaCl) 5 – 7 дней, замораживании (-19°C) – 14 дней и гибнут при ее проваривании, обжарке. *Aeromonas* spp. способны размножаться при пониженных температурах (от -2 до 10°C) в говядине и свинине (К. Krovacek et al., 1992; S.B. Mano et al., 2000) и при этом сохранять факторы вирулентности (D. Mateos et al., 1993; S. Merino et al., 1995).

В процессе изучения аэромонад классификация их видов претерпела ряд изменений. Согласно 9-му изданию Определителя бактерий Берджи (1984) подвижные аэромонады были включены в семейство Vibrionaceae, род *Aeromonas* и разделены на 3 вида: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*. А в последнем издании этого Определителя (1994) видовой состав аэромонад был значительно расширен и дополнен видами: *A. eucrenophila*, *A. schubertii*, *A. veronii*, *A. media*. Они разделены на 3 группы: группу *A. caviae*, которая включает *A. caviae*, *A. eucrenophila* и *A. media*; группу *A. hydrophila*, которая включает *A. hydrophila* и биогруппу подвижных организмов в составе *A. salmonicida*; группу *A. sobria*, которая включает *A. sobria*, *A. veronii* и *A. schubertii*.

В силу вариабельности ферментативных свойств идентификация новых видов аэромонад нередко вызывает затруднение. Так, некоторые авторы считают, что практически все клинические изоляты, идентифицированные как *A. sobria*, в действительности представляют собой *A. veronii* (F.W. Hickman-Brenner et al., 1987).

Американскими учеными А.М. Carnahan и S.W. Joseph (1993) предложена другая классификация, в основу которой легло изучение подвижных бактерий рода *Aeromonas*, которые были представлены клиническими вариантами, а также штаммами, выделенными из внешней среды и от животных. В первую группу вошли штаммы *A. hydrophila*, *A. veronii* биовар *sobria* и *A. caviae*; во вторую группу - *A. veronii* биовар *veronii* и *A. schubertii*. Кроме того, появилась группа из 2-х новых видов: *A. jandaei*

(А.М. Carnahan et al., 1991 а) и чувствительный к ампициллину *A. trota* (А.М. Carnahan et al., 1991 б).

В настоящее время насчитывается около 16 видов, относящихся к роду *Aeromonas*. Но систематическое положение таких видов как *A. encheleia* С. Esteve et al., 1995, *A. ichtiosmia* R.H.W. Schubert et al., 1991, *A. culicicola* V. Pidiyar et al., 2002, *A. sharmana* P. Saha and T. Chakrabarti 2006, *A. allosaccharophila* A.J. Martinez-Murcia et al., 1992 по мнению ряда авторов является весьма спорным (G.B. Nair, B. Holmes, 2002; С. Esteve et al., 2003; M.J. Saavedra et al, 2006). Также нет единого мнения относительно вида *A. enteropelogenes* R.H.W. Schubert et al., 1991, который рассматривается G. Huys et al. (2002) как более ранний синоним *A. trota* А.М. Carnahan et al., 1992.

Выделение вирулентных штаммов аэромонад только от больных рыб указывает на их этиологическую роль при заболевании карпов аэромонозом. В ходе бактериологического исследования двухлетних карпов с признаками острого и подострого течения болезни К.А. Лобунцовым и Н.И. Рудиковым (1972) было установлено, что при переходе острого течения краснухи в хроническое частота выделения вирулентных форм *A. punctata* из внутренних органов и из язв больных рыб снижается, а от переболевших рыб они или не выделяются совсем, или выделяются слабовирулентные штаммы. Об этом свидетельствуют и данные В.В. Просяной (1972), В.И. Афанасьева с сотр. (1978), которые чаще выделяли вирулентные бактерии от карпов с острой формой болезни, чем с подострой. Причем существенной разницы в видовом составе аэромонад, выделяемых от больных краснухой и здоровых рыб, не обнаружено (В.В. Просяная, П.М. Хуторной, 1983). От толстолобиков с синдромом краснухи также выделяли патогенные для карпов и белых амуров штаммы *A. punctata*. При этом морфологические и биологические свойства культур, выделенных от больных краснухой толстолобиков и карпов, были идентичны (А.В. Синев и др., 1974; В.И. Афанасьев и др., 1978).

Экспериментальные исследования иностранных авторов (L. Vuza, 1975; J. De Figueiredo, J. Plumb, 1977; U. Boulanger et al., 1977) показали, что

штаммы аэромонад, выделенные из воды и ила, обладают более низкой вирулентностью. Так, при внутрибрюшинном введении в концентрации даже 10^{12} микробных клеток они не вызывали гибели рыб, в то время как штаммы, выделенные из организма больных рыб, вызывали клинические признаки и гибель рыб в концентрации $10^4 - 10^5$ м. к. При этом установлено что, в процессе хранения у музейных штаммов резко снижается вирулентность, и для ее восстановления требуется значительное количество пассажей через организм рыб (L. Vuza, 1975).

Первые работы по изучению антигенной структуры и серологической типизации патогенных штаммов *A. hydrophila* проведены в Центральной лаборатории по изучению болезней рыб ВИЭВ. При этом выделены 4 серотипа этой бактерии, которые и были признаны основными возбудителями, обуславливающими неблагополучие прудовых хозяйств и естественных водоисточников по аэромонозу карпов (А.И. Канаев, 1975; К.А. Лобунцов, Н.И. Рудиков, 1979).

Некоторые авторы считают, что высоковирулентные виды аэромонад как облигатные патогены встречаются довольно редко, а основную роль в возникновении аэромоноза играет группа условно патогенных аэромонад с приобретенной или индуцированной вирулентностью, приобретающих эти свойства в результате воздействия определенных факторов внешней среды или пассирования через организм рыб (Л.Н. Юхименко и др., 1997; 1998; 2001). А поскольку аэромонады в воде рыбоводных прудов присутствуют всегда и являются одним из компонентов микробиоценоза воды, то отрицательное влияние факторов внешней среды (нарушение санитарно-гигиенического режима в прудах, воздействие стресс-факторов, неудовлетворительное качество кормов и др.), по их мнению, приводит к снижению общей резистентности организма рыб, повышению бактериальной обсемененности воды, контаминации органов и тканей рыб и в итоге клиническому проявлению аэромонадной инфекции.

В последнее время отмечается тенденция к повышению уровня заболеваний, этиологическими агентами которых являются ассоциации в основном грамотрицательных микроорганизмов (аэромонад, псевдомонад, энтеробактерий и др.) (Л.Н. Юхименко, Л.И. Бычкова, 2007). Исходя из этого, авторы предлагают выделить их в отдельное заболевание и называть его бактериальной геморрагической септициемией (БГС). Следовательно, согласно последним данным литературы среди аэромоназов рыб выделяют две группы заболеваний. К первой группе относится специфический аэромоназ (краснуху) карпов, обусловленный вирулентными штаммами *A. hydrophila* и частично другими патогенными видами аэромонад (*A. sobria*). Вторую группу составляют неспецифические аэромоназы или БГС, вызываемые условно патогенными аэромонадами или их ассоциациями с другими бактериями. Они могут возникать на фоне резкого снижения резистентности организма рыб под воздействием неблагоприятных зоогигиенических условий, загрязнения водоемов, нарушений технологии выращивания рыб и других факторов.

Как видно из анализа приведенных литературных источников, аэромоназы рыб имеют сложную этиологическую структуру. Однако, следует подчеркнуть, что ведущую роль в их этиологии играют патогенные штаммы определенных видов аэромонад, обладающие генетически обусловленными вирулентными свойствами. Так, установлено, что факторами вирулентности аэромонад являются адгезины, экзотоксины (гемолизины, энтеротоксины), специфические ферменты, обеспечивающие защиту внедрившихся микроорганизмов от действия иммунной системы хозяина.

Вирулентные аэромонады отличаются высокой степенью инвазивности (инфективности) за счет наличия у них выраженных адгезивных свойств и способности проникать не только через тканевые барьеры, но и внедряться в эпителиальные клетки (К.У. Leung а. о., 1996; Н.А. Соколова и др., 2000; И.П. Иренков, М.Н. Борисова и др., 2001).

Адгезины у аэромонад являются атрибутом приспособления к условиям окружающей среды и необходимы для запуска инфекционного процесса патогенными бактериями (В.В. Шимко, Л.Н. Широгорова, 1991; Н.И. Вовк, 2007). Опыты, проведенные В.В. Шимко и Л.Н. Широгорова (1991), показали, что способность к агглютинации эритроцитов лошади, барана, морской свинки, белой крысы и хомяка выявлена у всех штаммов аэромонад, выделенных от больных рыб. При этом, 90% исследуемых штаммов гемолизировали нативные эритроциты этих животных. При хранении на искусственных питательных средах аэромонады теряли способность к агглютинации эритроцитов животных. А при пассировании их через организм чувствительных рыб реизоляты аэромонад приобретали способность к гемагглютинации.

Для аэромонад, в частности, для *A. hydrophila* характерно образование экзотоксинов – аэролизина (гемолизина), цитотоксина (дермонекротизина), холероподобного энтеротоксина Азао и эндотоксинов – гемолизина I и II (Т. Wadström et al., 1976; М.В. Далин, Н.Т. Фиш, 1980; В.И. Покровский и др., 1999). В пользу токсинообразования у *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. trota*, выделенных из организма людей, животных, объектов внешней среды, говорят результаты исследования ряда зарубежных авторов (В. Acosta et al., 1991; D.V. Singh, S.C. Sanyal, 1992, 1997; J. Andziak et al., 1992; М.О. Efuntoye, 1995; S.B. Baloda et al., 1995; J. Vadivelu et al., 1995 и др.).

К.А. Лобунцовым (1968, 1986) изучалась токсигенная способность *A. hydrophila* с различной степенью патогенности и свойства вырабатываемого ею токсина, полученного путем фильтрования культур через мембранные фильтры. При этом было установлено, что аэромонады при культивировании на питательных средах способны образовывать экзотоксин, обладающий летальным, желатинолитическим, лецитинолитическим, гемолитическим действием на эритроциты карпа, кролика, крупного рогатого скота и барана, цитотоксическим действием при внутривенном введении карпам и белым мышам. Токсин имеет антигенную природу; в организме кроликов в ответ на

его введение образуются антитела, обладающие нейтрализующей способностью в отношении его гемолитического и цитотоксического действия.

Исследования, проведенные В.Ф. Борисенко (1991), свидетельствуют, что степень дезоксирибонуклеазной активности аэромонад, выделенных от больных рыб, находится в прямой зависимости от способности вызывать патологический процесс. Вирулентные аэромонады, обладающие ДНК-азной активностью, выделенные из патологического материала от рыб с признаками острого течения болезни, постоянно дают положительный результат при постановке биопробы на карпах. В то же время, аэромонады, выделенные от клинически здоровых рыб и из воды, также обладающие высокой ДНК-азной активностью, не всегда вызывают гибель рыб или развитие клинических признаков (положительный результат около 70% случаев) (Л.Н. Юхименко и др., 2001). Л.И. Слынько с соавторами (1986) установлено, что при остром течении корреляция между количеством положительных биопроб и положительной реакцией чистых культур микробов на ДНК-азном агаре была выражена в 80% случаев. У рыб с хронической формой число совпадений составило 62,5%, разные результаты составили 12,5% и сомнительные – 25%. Несмотря на то, что ДНК-азная реакция не дает 100% совпадения, при отсутствии возможности постановки биопробы ее можно использовать с целью определения вирулентности выделенных бактерий при остром и хроническом течении аэромоноза.

Считается, что наиболее распространенными видами, изолируемыми из рыб, являются *A. hydrophila*, *A. sobria* и *A. caviae*, для определения которых ранее использовались только биохимические методы. Однако, благодаря наличию современных генетических методов идентификации, в частности ПЦР, появляется возможность более точно устанавливать видовую принадлежность аэромонад и выявлять у них факторы вирулентности (гемолизины, липазы, протеазы, ДНК-азы) (N. Borrell et al., 1997; M.J. Figueras et al., 2000; L. Soler et al., 2002). Например, по данным G. Castro-

Escarpulli с сотр. (2003) при использовании этих методов установлено, что бóльшая часть аэромонад, выделенных из замороженной тиляпии *Oreochromis niloticus niloticus*, реализуемой на рынках Мексики, определялась как *A. salmonicida* (67,5%) и *A. bestiarum* (20,9%). А остальные виды в незначительных количествах принадлежали к *A. veronii* (5,2%), *A. encheleia* (3,9%) и *A. hydrophila* (2,6%). К сожалению, в нашей стране эти методы не разработаны и практически не используются.

В связи со сложной и недостаточно изученной антигенной структурой возбудителей лабораторная диагностика аэромоназов представляет определенные трудности. Поэтому она осуществляется комплексно на основании клинико-анатомических признаков, эпизоотологических данных, результатов общих методов бактериологических исследований и определения патогенности аэромонад по ДНК-азной активности и в биопробах на восприимчивых рыбах. Это зачастую сильно затрудняет своевременную постановку окончательного диагноза, оценку эпизоотической ситуации и проведение оздоровительных мероприятий.

С целью ликвидации аэромоназа карпов на неблагополучные хозяйства накладывают карантин и в зависимости от структуры и экономических возможностей для оздоровления хозяйства применяют летование или комплексный метод. Последний включает в себя наряду с проведением ветеринарно-санитарных мероприятий поочередное летование прудов, дезинфекцию ложа прудов, гидротехнических сооружений, спецодежды, инвентаря, тары, создание благоприятных условий среды и кормления, формирование иммунного стада, лечение рыб с широким применением антибактериальных препаратов (Сб. инстр. по борьбе с бол. рыб, 1998).

1.2. Псевдомонозы

Псевдомонозы – общее название болезней карповых рыб, вызываемых бактериями из рода *Pseudomonas*. Типовой вид – *Pseudomonas aeruginosa*, являющийся сапрофитом, способен к временному паразитизму в организме

животных, человека и растений (Берджи, 1997; В.Д. Беляков, Л.А. Ряпис, В.И. Илюхин, 1990; В.И. Покровский и др., 1999). Другие виды псевдомонод также широко распространены в окружающей среде и их причисляют к микробам-оппортунистам. У рыб, обитающих в пресных и солоноватых водах, псевдомонозы могут вызываться условно-патогенными или вирулентными штаммами *Ps. fluorescens*, *Ps. putida* (W. Schäperclaus, 1954; 1964; 1965; P. Meyer, 1966), *Ps. nonliquefaciens* (H. Dombrowski, 1953), *Ps. mesenterica* (Ю.Д. Нечипоренко, 1963), *Ps. granulata* (G. Brunner, 1953), *Ps. cyprinisepticum* (К.А. Лобунцов, Л.И. Грищенко, В.Г. Енгашев, 1971) и др. Они вызывают самостоятельные заболевания или осложняют другие инфекции (В.В. Манжелей, 1969; В.В. Просяная, П.М. Хуторной, 1975; В.П. Мочалкин, 1981; Б.Л. Гаркави и др., 1991; Г.П. Вялова, З.К. Шкурина, 1995). На возникновение данной инфекции большое влияние оказывает нарушение санитарно-гигиенического состояния водоемов, снижение резистентности организма рыб за счет воздействия стресс-факторов, травматизации, высокой скученности рыб и т. д.

Ученые Югославии и Венгрии Z. Petrinec et al. (1983) и J. Csaba et al. (1984), наблюдая псевдомоноз толстолобиков, обнаружили, что он вызван *Ps. fluorescens*. В Советском Союзе впервые К.А. Лобунцов и др. (1971) и Н.И. Рудиков и др. (1979) описали септический псевдомоноз карпов и толстолобиков, вызванный *Ps. cyprinisepticum* и *Ps. capsulata* в прудовых хозяйствах. Вспышки заболевания наблюдались в зимовальных прудах при низкой температуре воды (от 1-2°C до 10-15°C) и затухали в весенний период. В настоящее время псевдомонозы проявляются в виде спорадических вспышек во время зимовки рыбы в садках, бассейнах и реже в прудах. В 2008 г. они зарегистрированы в Ленинградской, Тверской, Ростовской, Камчатской областях, Хабаровском крае (М.В. Калмыков, В.И. Белоусов, 2009).

Псевдомоноды являются типичными внеклеточными паразитами, обладают менее выраженной инвазивностью по сравнению с аэромонадами.

К факторам их вирулентности относят биологически активные и токсические продукты. У многих видов сапрофитных микроорганизмов, в т. ч. у *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens* выявлены гликогидролазы (нейраминидазы) с широким диапазоном субстратной специфичности, также метаболические ферменты (протеазы), способствующие проникновению и распространению микроба в организме животных. У подавляющего большинства *Ps. fluorescens* и у отдельных штаммов *Ps. putida* и *Ps. alcaligenes* выявлена гемолитическая активность (М.В. Далин, Н.Г. Фиш, 1980; В.Д. Беляков и др., 1990; В.И. Покровский и др., 1999; Т. Bergan, 1981). Псевдомонады синтезируют более 50 видов антибиотических веществ, которые относятся к феназинам, пиролам и производным индола. *Ps. fluorescens*, *Ps. putida* и другие (24 вида) образуют бактериоцины (пиоцины), представляющие собой антибиотики с широким спектром действия, а *Ps. fluorescens* продуцирует псевдомоновую кислоту, также обладающую антимикробными свойствами (Е.Л. Рубан, 1986; В.Д. Беляков и др., 1990).

В последнее время стали появляться ранее очень редкие неподвижные капсулообразующие бактерии, такие как *Ps. fluorescens* var. *capsulate*, которые часто выделяются из воды, особенно в весенний и осенний периоды (Л.Н. Юхименко и др., 1998; 2005). Наличие слизистых капсул служит фактором защиты микроорганизма и является одной из причин высокой резистентности псевдомонад к антибиотикам и другим противомикробным препаратам.

Патоморфологическая картина была кратко дана W. Schäperclaus (1979) при псевдомонозах, вызванных *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *Ps. chloroaphis* у карпов, карасей, форели, угрей, кеты и при смешанных псевдомонозах и аэромоназах аквариумных рыб, проявление которых было сходно с острой формой аэромоноза.

В.П. Мочалкин (1981) приводит описание острого течения септического псевдомоноза у сеголетков карпа, вызванного *Ps.*

супринисептицизм, который проявлялся ерошением чешуи, пучеглазием, увеличением брюшка, очаговыми кровоизлияниями на поверхности тела.

Наиболее подробно клинико-анатомическая картина псевдомоноза, вызванного также *Ps. cyprinisepticum*, представлена Л.И. Грищенко (2004). У разных видов рыб (сеголеток и двухлеток карпа, карася, толстолобика и буффало) болезнь проявлялась острым или подострым течением в виде асцитной (септической) формы, сходной с острой формой аэромоноза. Им были выявлены клинико-морфологические особенности, имеющие важное дифференциально-диагностическое значение.

Поскольку дифференциальная диагностика аэромонозов и псевдомонозов часто вызывает затруднения, их диагностировать, по мнению К.А. Лобунцова (1970), Е.Ф. Осадчей и В.Н. Лигоцкой (1971), нужно не только на основании бактериологических исследований, но и с учетом данных клинического осмотра, патологоанатомического вскрытия, эпизоотологических данных и результатов биопробы.

В качестве мер борьбы в хозяйствах вводят ограничения на перевозки рыб. Больным рыбам обеспечивают оптимальные зоогигиенические, биотехнологические и рыбоводно-биологические условия. Проводят дезинфекцию гидротехнических сооружений, инвентаря и оборудования, а также лечение рыб. (Сб. инстр. по борьбе с бол. рыб, 1998).

1.3. Миксобактериозы

Миксобактериозы – широко распространенные болезни у многих видов пресноводных и морских рыб, вызываемые скользящими бактериями группы *Flexibacter-Cytophaga*. Первоначально заболевания были зарегистрированы в рыбоводных хозяйствах, а также солоноватых водах и морях Северной Америки. Позднее они были отмечены в Европе, Японии, Новой Зеландии, Советском Союзе (М. Ajmal, В.С. Hobbs, 1967; Р. Ghittino, 1967; 1970; 1972; R. Bootsma, 1973; R. Spangenberg, 1975; Н. Wakabayashi, S. Egusa, 1966; Р.М. Nine, 1975; В.В. Просяная и др., 1978). В настоящее время они наиболее

распространены во многих тепловодных рыбоводных хозяйствах, выращивающих форель, карпа и осетровых по индустриальной технологии.

Возникновение инфекций, как правило, сопряжено с выращиванием рыбы в условиях интенсивной аквакультуры, обуславливающей снижение общей резистентности под воздействием неблагоприятных факторов (травмы, неполноценное кормление, пониженный водообмен, переуплотненные посадки и т. д.) (Н. Wakabayashi, 1991; E.J. Noga, 1995). К болезни чувствительны рыбы различных возрастов, но наиболее восприимчива молодь, что связано, по-видимому, с недостаточно развитой иммунной системой (Rintamaki-Kinnunen et al., 1997; В.И. Лукьяненко, 1989; E.J. Noga, 1995). Многие исследователи считают, что миксобактерии являются компонентами нормального водного биоценоза. Однако среди них встречаются представители, способные вызывать гибель рыб – *Flavobacterium columnare*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Flexibacter columnaris*, *Flavobacterium branchiophilum* (J.F. Bernardet et al., 1990; J. Farkas, J. Olah, 1986; R.A. Holt et al., 1993; C. Morrison et al., 1981; Н. Wakabayashi et al., 1989). Несколько позднее была установлена этиологическая роль *Flavobacterium johnsonae* при массовой гибели некоторых видов рыб при разведении их в условиях индустриального рыбоводства (J. Carson et al., 1993; M. Soltani et al., 1994). Н.В. Гусевой с сотрудниками (1998) была подтверждена патогенность этого возбудителя в биопробе для молоди осетровых.

Миксобактериозы проявляются как 3 самостоятельные заболевания: флексибактериоз, бактериальная жаберная болезнь (БЖБ) и бактериальная холодноводная болезнь.

Флексибактериоз (кolumнарис-болезнь, «столбиковая болезнь», «серый поясок», «серое седло») регистрируется у всех видов культивируемых рыб, но наибольшую опасность представляет для молоди лососевых и карповых рыб. Возбудитель – *Flexibacter (Chondrococcus) columnaris* на питательных средах в колониях и на рыбе образует характерные столбчатые массы (Н.

Wakabayashi, S. Egusa, 1966; S.F. Snieszko и A.J. Ross, 1969; R.E. Pacha и E.J. Ordal, 1970). *Fl. columnaris* растет в диапазоне температур 4 - 30°C. Штаммы из теплой воды развиваются и при температуре 35 -37°C (R.E. Pacha и S. Porter, 1968; R.E. Pacha и E.J. Ordal, 1970; G.L. Bullock, 1972). Болезнь начинает развиваться летом при температуре выше 12°C. В.В. Просяная с сотрудниками (1978) отмечали гибель 12% сеголетков радужной форели при температуре воды 14,5°C.

При температуре ниже 10°C смертность рыб невелика, однако при более высокой температуре (12 - 15°C) она резко возрастает, а при дальнейшем увеличении до 20°C и выше отмечается наибольший отход (до 90%) (J.L. Fryer, K.S. Pilcher, 1974; Н.В. Гусева, И.С. Щелкунов, 1999). Н. Wakabayashi (1991) считает, что оптимальная температура для вспышки инфекции составляет 26 - 30°C.

Флексибактериоз протекает остро и хронически. Острое течение, вызываемое высоковирулентными штаммами возбудителя, протекает бессимптомно, сопровождается массовой гибелью рыбы.

Хроническое течение наблюдается при заражении слабовирулентными штаммами, которые поражают преимущественно кожу и жабры. Вначале на поверхности тела появляются беловато-серые пятна. В дальнейшем они увеличиваются и почти полностью покрывают тело. Иногда отмечается отек жабр, в результате чего жаберные крышки приподнимаются. Впоследствии происходит ослизнение жаберных лепестков (W. Schäperclaus, 1979; G.L. Bullock et al., 1971). Н.В. Гусева и И.С. Щелкунов (1999) у отдельных особей наблюдали эрозии или некроз хвостового стебля и спинных плавников, все больные и погибшие рыбы имели ярко выраженные признаки некроза жабр. При патологоанатомическом вскрытии у 90% сеголетков и 21,3% двухлетков обнаруживали увеличение почек, которые были сильно набухшие, мажущейся консистенции. У сеголетков радужной форели также были некротизированы спинной и хвостовой плавники, а в средней части тела отмечался характерный круговой серый пояс, отходящий от спинного

плавника и напоминающий «седло» (В.В. Просяная и др., 1978). На вскрытии обнаруживали бледность и желтушность печени, незначительное увеличение селезенки.

По данным японских исследователей (Н. Wakabayashi, 1991; M.B.R. Chowdhury, Н. Wakabayashi, 1991) *Fl. columnaris* может длительно выживать в воде с высокой жесткостью, но не может существовать в морской воде.

Бактериальная жаберная болезнь (БЖБ) поражает культивируемых лососей, а также других рыб в тепловодных и прудовых хозяйствах при температуре от 5 до 30°C. Возбудителем ее является *Flexibacter branchiophila*, при инфицировании которым происходит уплотнение жаберного эпителия, расплавление и утолщение жаберных лепестков (Сб. инстр. по б. с бол. рыб, 1998). Хотя В.И. Лукьяненко (1989) считает, что данная форма миксобактериоза, поражающая в основном жабры молоди лососевых сразу после перехода на внешнее питание, развивается только при низких температурах. Острое течение характеризуется высокой смертностью заболевшей молоди (до 90%).

Бактериальная холодноводная болезнь (bacterial cold water disease, BCWD) относится к группе заболеваний лососевых рыб, выращиваемых при низких температурах воды, и вызывается представителем рода *Flavobacterium* из семейства *Cytophagaceae* *F. psychrophilum* (Р.А. Куденцова и др., 2000). Впервые возбудитель бактериального холодноводного заболевания был выделен из почек больных кижучей и назван *Cytophaga psychrophila* (А.Ф. Borg, 1960). В течение длительного времени таксономия бактерий рода *Cytophaga* не представляла ясности из-за разногласия разных авторов в отношении систематической родовой принадлежности. В 1996 году на основании более подробных биохимических, фенотипических и антигенных свойств ранее названный возбудитель *Cytophaga psychrophila* (синоним *Flexibacter psychrophilus*) был отнесен к роду *Flavobacterium* и назван *Flavobacterium psychrophilum* (J.F. Bernardet et al., 1996).

Считается, что болезнь характерна для сеголетков и рыб старших возрастов, а для личинок и мальков массой 0,2 – 2,0 г болезнь описана под названием «синдром смертности личинок форели (rainbow trout try syndrome, RTFS)». Кроме этого, *F. psychrophilum* является возбудителем еще целого ряда заболеваний, известных как «синдром молодежи форели», «миксобактериальная инфекция», «бактериальная инфекция», «бактериальная анемия молодежи», «некротический миозит лососевых» (R.A. Holt et al., 1993; J.S. Lumsden et al., 1996; V.E. Ostland et al., 1997; A.E. Toranzo, J.L. Barya, 1993).

Ряд зарубежных авторов (R.A. Holt et al., 1993; J.S. Lumsden et al., 1996; V.E. Ostland et al., 1997) полагает, что для данного вида бактерий характерно образование токсинов, которые являются причиной деструктивных процессов в организме рыб.

Бактерия *F. psychrophilum* растет на твердой среде с низким содержанием питательных веществ при оптимальной температуре 15°C с образованием желто-зеленых колоний, а при температуре выше 25°C рост прекращается. Холодноводная болезнь проявляется преимущественно зимой при температуре воды 4 - 12°C у всех видов лососевых рыб, но особенно подвержен кижуч (R.A. Holt et al., 1993; H. Wakabayashi, 1991; T. Wiklung, 1994).

У личинок форели, только что ставших на плав, отмечается эрозия оболочки, покрывающей желточный мешок, гибель при этом может составлять 30 – 70% (R.A. Holt et al., 1993). У мальков наблюдаются беловатые полосы на теле. У сеголетков и годовиков лососевых рыб в зимний период заболевание протекает преимущественно в хронической форме. Вначале возникает эрозия спинного и хвостового плавников, затем на спине появляются беловатые язвы с гладкими краями, достигающие мышечного слоя и даже позвоночника. Смертность рыб невысокая (10 – 20%), но продолжается длительное время (R.A. Holt et al., 1993).

Диагностика миксобактериозов представляет определенные трудности, которые связаны с разнообразием клинических признаков, обусловленных, вероятно, наличием многих серотипов, значительно различающихся между собой по вирулентным, биохимическим и антигенным свойствам. Поэтому для дифференциации их от других сходных болезней, в частности от фурункулеза, предложено обязательно проводить микроскопическое исследование нативных и окрашенных мазков с пораженных органов, а также выделение возбудителя при бактериологическом исследовании (Р.А. Куденцова и др., 2000).

Меры борьбы с миксобактериозами сводятся к оптимизации гидрохимического режима водоемов, очищению водоемов от загрязнений, регулярному проведению ветеринарно-санитарных мероприятий и повышению резистентности организма рыб. При вспышке болезней применяют антибактериальные препараты в виде ванн и с кормом (Сб. инстр. по борьбе с бол. рыб, 1998).

2. Применение и эффективность антибактериальных препаратов при бактериальных болезнях рыб

Важной составляющей в комплексе оздоровительных мероприятий при бактериальных болезнях рыб является применение лечебных препаратов. С этой целью широко используют антибиотики, препараты нитрофуранового ряда, сульфаниламиды, органические красители и др.

Перечень антибиотиков, применяемых в аквакультуре, довольно велик. В отечественном рыбоводстве одними из первых антибиотиков для лечения аэромоназа карповых рыб применялись хлорамфеникол (левомицетин) и хлортетрациклин (биомицин) (Ю.Д. Нечипоренко, 1963). Их бактериостатическая концентрация в отношении *A. punctata* составляла 1 – 2 мкг/мл, а бактерицидная – 50 мкг/мл.

Данные многих исследователей свидетельствуют, что аэромонады, выделяемые из рыб и внешней среды, обладают высокой устойчивостью к пенициллинам, олеандомицину, новобиоцину, беталактамным антибиотикам

– ампициллину, карбенициллину, цефалоридину (МПК составляет 128 мкг/мл и более). В то же время они довольно чувствительны к тетрациклинам, аминогликозидам – стрептомицину, мономицину, канамицину, гентамицину, а также полимиксину, хлорамфениколу, налидиксовой и оксолиновой кислотам, триметоприм-сульфанидам, сульфамеразину. Менее чувствительны аэромонады к эритромицину и рифампицину (И.Д. Радин, 1972; F. Weirowski, A. Goltz, 1989; А.Б. Хайтович и др., 1992; A. Jakubczak et al., 1992; A. Ansary et al., 1992; L. Guz, A. Kozinska, 2004).

В. И. Афанасьевым (1973; 1979) установлена достаточно высокая эффективность дибиомицина и дитетрациклина против аэромонады и жизнедеятельности флюоресцирующих бактерий рода *Pseudomonas*. Эти препараты профилактировали заболеваемость рыб аэромонадой на 80 – 100%, а терапевтический индекс составил свыше 70. Совместное внутрибрюшинное использование дибиомицина с экмолином, обладающим пролонгирующим действием, давало выраженный профилактический эффект и предотвращало заражение карпов краснухой до 17 дней (В.И. Афанасьев, В.С. Сулейманян, 1972).

Эксперименты по изучению кинетики полусинтетического аналога окситетрациклина – метациклина в организме карпов позволили определить, что оптимальная доза при внутримышечном и внутрибрюшинном введении составляет 5 – 15 мг/кг массы рыб каждые 3 – 4 дня, а при обработке рыб в растворе концентрация - 100 мг/л с экспозицией 60 минут. Опыты с другими антибиотиками показали их несостоятельность. Производные пенициллина - оксациллин и диклоксациллин нецелесообразно применять из-за быстрого выведения их из организма рыб и высокой устойчивости к ним аэромонад и псевдомонад (МПК – более 100 ед/г), а гентамицин – также из-за быстрого выведения и низкой всасываемости (Т.К. Севян, 1981; Г.А. Шакарян и др., 1981; Г.А. Шакарян, Т.К. Севян, 1983).

Для более эффективного воздействия на аэромонады существенное значение придавалось профилактическому скармливанию карпам препаратов других фармакологических групп – фуразолидона, метиленовой сини, сульфаниламидных препаратов (О.В. Бабенко, Г.С. Оганесян, 1997). Так, Д.Н. Лямкин (1972) рекомендует задавать годовикам фуразолидон и метиленовую синь с кормом при добавлении их в количестве 200 г и 500 г соответственно на 1 тонну корма. По данным В.И. Афанасьева (1973) положительный результат при аэромонозе дает скармливание двухлеткам корма с фуразолидоном с профилактической целью весной из расчета 4,5 г на 10 кг корма в течение 10 – 12 дней с перерывами в 2 дня между 5-тидневками.

Позднее в Белоруссии были испытаны новые антимикробные препараты, обладающие высоким терапевтическим действием при аэромонозе карпов. Ветеринарный препарат анзамицин, включающий комплекс антибиотиков рифампициновой группы с широким спектром действия, а также комбинированный препарат ветдипасфен применялись для группового скармливания. При этом сульфален и рифампицин были использованы для внутрибрюшинного инъектирования ремонтно-маточному стаду рыб (Э.К. Скурат, Е.И. Гребнева, 1994; Э.К. Скурат и др., 1996).

Возбудители псевдомонозов обладают более высокой резистентностью к применяемым в рыбоводстве антибиотикам и химиопрепаратам (К.А. Лобунцов, 1986). В отличие от аэромонад псевдомонады устойчивы к левомицетину и нитрофуранам (фуразолидону, нитрофурантоину) и наибольшую чувствительность проявляют к хлортетрациклину, тетрациклину, неомицину, сульфантролу (Л.С. Федорченко, 1968; В.В. Просяная, П.М. Хуторной, 1978; Г.П. Вялова, З.К. Шкурина, 1995; Э.Н. Запличникова, Н.А. Небесихина, 1996).

Для лечения миксобактериозов в Северной Америке и Германии использовался широкий спектр химиопрепаратов (мефарол, трипафлавин, нифурпиринол, тетрациклин, фуразолидон). В.В. Просяная с сотрудниками

(1978), Н.В. Гусева и И.С. Щелкунов (1999) исследовали чувствительность к антибактериальным препаратам выделенных возбудителей миксобактериоза от сеголетков форели и *Flexibacter columnaris* от молоди карпа. При этом установлено, что они чувствительны к левомецетину, окситетрациклину, тетрациклину, оксолиновой кислоте, слабочувствительны к хлортетрациклину. Все культуры *Fl. columnaris* были устойчивыми к действию фуразолидона. Поэтому с лечебной целью для форели рекомендован корм с левомецетином в сочетании с применением триафлавина в виде ванн (В.В. Просьяная и др., 1978). Н.В. Гусева и И.С. Щелкунов (1999) для лечения карпа проводили 10-дневное скармливание лечебного корма с левомецетином и окситетрациклином из расчета 50 мг/кг массы рыбы в сутки. Авторы считают, что на ранних стадиях болезни целесообразно использовать также марганцовокислый калий в виде ванн при концентрации 100 мг/л в течение 5 – 10 минут или хлорамин В (7 – 10 мг/л) в течение часа. Для лечения инфекции молоди осетровых рыб, вызванной *Flavobacterium jonsonae*-подобными бактериями, наиболее эффективными средствами оказались также окситетрациклин в составе лечебного корма и хлорамин В в виде ванн (Н.В. Гусева и др., 1998).

Серотипы *Flavobacterium psychrophilum*, выделенные от лососевых рыб, могут значительно различаться по чувствительности к медикаментозным средствам. R.A. Holt et al. (1993) сообщает, что для личинок на ранних стадиях развития с профилактической целью эффективны ванны из окситетрациклина и перманганата калия. Для питающейся молоди хорошие результаты дает скармливание сульфаметазина (4 г на 4,5 кг массы рыб в день). В Испании и Австралии возбудитель оказался резистентным к сульфаниламидам и оксолиновой кислоте (А.Е. Toranzo, J.L. Barya, 1993; M. Soltani et al., 1995). В Финляндии возбудитель был чувствителен к оксолиновой кислоте, тетрациклину, сульфаниламидам и устойчив к триметоприму (I. Weis, 1987). В Дании все выделенные штаммы оказались

чувствительны к хлорамфениколу, но при этом были устойчивы к окситетрациклину (M.S. Bruum, 1999).

В 1970-е годы в рыбоводстве для лечения и профилактики аэромоназа широкое распространение получило использование премиксов, в состав которых кроме антибиотиков и химиопрепаратов входили витамины, кормовые дрожжи, антиоксиданты и другие соединения. Основными достоинствами таких препаратов как биовит, кормогризин, карповит, биоветин, бацилихин, нифулин были доступность и низкая стоимость. Считалось, что их применение повышает рыбопродуктивность прудов, снижает затраты корма, улучшает белковый и витаминный обмен, стимулирует неспецифические защитные силы организма рыб (Г.Е. Сухенко, 1974; С. Круглов, 1985; А.В. Мясоедов, 1989; А.А. Подзорова, 1997).

Однако наряду с этим появились сообщения, что регулярное применение антибиотиков с лечебно-профилактической целью в рыбоводстве приводит к селекции лекарственноустойчивых штаммов аэромонад (В.В. Присяная, П.М. Хуторной, 1977; Т. Аоки, S. Egusa, 1971; Н.И. Shlotfeldt, 1985). Так, длительное скармливание корма с биоветином, содержащим 25% чистого хлортетрациклина, в течение 25 дней с перерывом в 2 дня через 5 дней привело к уменьшению количества больных карпов и снижению частоты выделения вирулентных аэромонад, но при этом возросло количество псевдомонад, и появились устойчивые к хлортетрациклину бактерии. Поэтому антибиотики не рекомендуется использовать в качестве кормовых добавок, а также длительно применять их для лечения без учета чувствительности к ним бактериальной флоры (В.В. Присяная, П.М. Хуторной, 1978; 1979).

Т. Аоки, S. Egusa, Т. Watanabe (1972) также отмечали, что при кормлении карпа кормом, содержащим хлорамфеникол или хлортетрациклин, в течение 5 – 10 дней 100% бактерий из родов *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia* становятся устойчивыми к этим препаратам.

Доказано, что аэромонады предрасположены к множественной антибиотикорезистентности. Устойчивость к тетрациклинам сочетается как с резистентностью к препаратам своей группы, так и к антибиотикам других групп (А.Б. Хайтович и др., 1992).

Л.Н. Юхименко с сотр. (2007) отмечает, что в хозяйствах, не применявших Антибак, действующим веществом которого является ципрофлоксацин, резистентные к нему штаммы аэромонад не выделялись вообще, количество слабочувствительных составило менее 5%, а чувствительных и высокочувствительных – 58,8 и 36,5% соответственно. Антибиограмма штаммов аэромонад из хозяйств, применявших Антибак с профилактической целью, показала, что число резистентных и слабочувствительных штаммов значительно увеличилось до 17,1% и 31,4% соответственно. Похожая картина наблюдалась и с использованием левомицетина, тетрациклина, фуразолидона.

Использование других антибактериальных препаратов также не всегда оправдано. Так, аминогликозиды плохо всасываются при пероральном введении, а нитрофурановые соединения неустойчивы в воде и быстро разрушаются на свету (В. Austin, 1984).

Серьезную проблему при применении антибиотиков представляют накопление и выведение их из организма рыб. Известно, что использование в больших количествах антибиотиков привело к изменению микрофлоры кишечника у рыб и накоплению их в мышцах (Т. Kuwabata, 1980; А. Schmid, 1980). Так, окситетрациклин выявляется в мышцах радужной форели в течение 80 дней после десятидневного скармливания, а в печени – 90 дней (R. Zalte, 1982). При этом в замороженной рыбе он сохраняется до 330 дней. Экскреция тетрациклина, вводимого карпам внутривентрально в дозе 50 мг/кг массы рыб при температуре 22°C продолжалась до 12 дней, при более низких температурах (14°C) она значительно удлинялась (F.J. Meunier, 1982).

Бесконтрольное применение антибиотиков приводит не только к образованию резистентных штаммов бактерий и загрязнению окружающей

среды, но и к неблагоприятному воздействию остаточных количеств лекарственных веществ, содержащихся в продуктах животного происхождения, в том числе в рыбе, на здоровье людей в виде ответной аллергической реакции и дисбактериозов (В.И. Аксенов, В.А. Ковалев, 1977; P. Scott, 1981; Sun Marjoric, 1984; Контр. за прим. химиопреп. в рыб-ве, 1987; Herbst u.a., 1989; F.P. Meyer, 1989). Поэтому во многих странах осуществляется ряд мероприятий по усилению контроля над применением лекарственных препаратов в рыбоводстве. Однако, требования, предъявляемые к лекарственным средствам, в разных странах очень различаются.

Так в Великобритании количество антибактериальных препаратов значительно ограничено, а по существующим в стране правилам для выведения использованных антибиотиков установлен 21-дневный период выдерживания рыб до поступления в продажу (P. Scott, 1981). В США из перечня применяемых ранее препаратов исключены: фуразолидон (NF-180), нитрофуразон (фурацин), карофур (хлортетрациклин), предположительно содержащие карциногены и высокотоксичный хлорамфеникол (хлоромитин) (R.A. Schnick, F.P. Meyer, 1986). Сейчас там официально разрешены только 5 препаратов из 43 используемых ранее (E.J. Noga, 1995). В Норвегии также не используются карофур и хлорамфеникол, а список препаратов, допущенных к применению в качестве антибактериальных средств, весьма ограничен и насчитывает около 5 наименований. В Германии хлорамфеникол (палмитат), карофур и фуразолидон имеют временно ограниченные допуски к использованию. Согласно законодательству, прежде чем обработанная рыба поступит в продажу, должно пройти 50 – 90 (минимум 30) дней (Herbst u.a., 1989; H.J. Shlotfeldt, 1991).

Существенным недостатком многих антибиотиков является их иммуносупрессивное действие на рыб. Установлено, что введение окситетрациклина с кормом подавляет клеточный и гуморальный иммунитет (G. Rijkers, 1980; J.L. Grondel et al., 1982; 1987). После инъекции

экмодибиомицина и левомицетина у карпов отмечены иммунофизиологические сдвиги на протяжении как минимум 3-х недель. В связи с этим не рекомендуется вводить их производителям позднее, чем за 40 – 60 дней до нереста (В.Я. Линник и др., 1986).

В связи с улучшением диагностики болезней и увеличением масштабов получения продукции аквакультуры в условиях высокой интенсивности возникла потребность в новых эффективных химиотерапевтических средствах. Но, с другой стороны, избыточное использование фармацевтических соединений создает нишу для быстрого развития в водной среде антибиотикоустойчивых микроорганизмов, которые могут быстро колонизировать иммуносупрессированных хозяев (В. Austin, 1992).

Очевидно, что распространение резистентных бактериальных штаммов будет продолжаться, пока будут использоваться антимикробные лекарственные средства. Поскольку до сих пор не создано, ни одного химиотерапевтического соединения, к которому у бактерий не возникала бы резистентность, по-прежнему, остается актуальной разработка новых антимикробных средств и химическая модификация известных препаратов, из которых перспективными являются представители фторхинолонового ряда (R.C. Moellering, 1998; Б.В. Виолин и др., 2001).

3. Препараты фторхинолонового ряда и их характеристика

Начиная с 80-х годов XX века многочисленные фармацевтические компании акцентировали свой выбор на группу синтетических химиотерапевтических средств - производных 6-фтор-4-хинолон-3-карбоновой кислоты, в дальнейшем получивших название фторхинолоны. Они в полной мере оказались соединениями, отвечающими требованиям, предъявляемым к новым антимикробным препаратам: широкий спектр с преимущественной антибактериальной активностью, общерезорбтивное действие и фармакокинетика, обеспечивающая высокую степень

биодоступности, хорошее проникновение в органы, ткани, биологические жидкости и в клетки.

К концу XX столетия в медицине фторхинолоны заняли одно из ведущих мест среди антимикробных средств для лечения взрослых больных и прочно зарекомендовали себя как высокоактивные препараты с широким диапазоном показаний к применению для лечения различных инфекционных заболеваний и гнойно-воспалительных процессов в неинфекционной клинике (Е.Н. Падейская, 1994; 1998; Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев, 1995; The Quin., 1988; The New Gen. of Quin., 1990; Quin. Antimicrob. Agents, 1993).

Термин фторхинолоны отражает две основные особенности химического строения этих препаратов: принадлежность к классу хинолонов и наличие в молекуле атома фтора в положении 6 цикла гетероциклической системы хинолона или аналога. В структуре каждого соединения присутствует очень важный для проявления антимикробной активности фрагмент пиридона – шестичленный цикл с кето-группой в положении 3 цикла (В. Буш и др., 1993; D.T.W. Chu, P.V. Fernandes, 1989; Y. Asahi, T. Ishizak, 1992; A. Brysker, J.-F. Chantot, 1995).

Важнейшие фармакокинетические свойства этих соединений наряду с высокой антимикробной активностью обеспечиваются не только фторированием в положении 6, но и одновременно наличием пиперазинильного радикала или его аналога в положении 7 цикла. Это позволило получить соединения с широким антибактериальным спектром, включающим не только бактерии, но и хламидии, микобактерии, риккетсии, боррелии.

Наиболее широкое применение в клинической практике за рубежом и в нашей стране получили: из бициклических монофторхинолонов (содержат один атом фтора в положении 6 цикла) – пefлоксацин, норфлоксацин и ципрофлоксацин; из трициклических – офлоксацин, а также относящийся к дифторхинолонам – ломефлоксацин (Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев, 1998). В настоящее время зарегистрированные в Российской Федерации

фторхинолоны подразделяются на препараты первого (пемфлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин, ломефлоксацин, норфлоксацин) и второго поколения (левофлоксацин, спарфлоксацин, моксифлоксацин) (С.В. Яковлев, 2001).

Фторхинолоны относятся к антимикробным препаратам с бактерицидным типом действия за счет ингибирования ДНК-гиразы, ключевого фермента бактериальной клетки, ответственного за процесс нормального биосинтеза ДНК, при этом характеризуются высокой бактерицидной активностью. Бактерицидный эффект проявляется на уровне минимальных подавляющих концентраций (МПК) или при концентрациях в 2 – 4 раза превышающих МПК, реже в более высоких концентрациях.

Наиболее высокую активность все препараты проявляют в отношении нейссерий, гемофильных палочек, моракселл и аэромонад, а затем – в отношении различных представителей энтеробактерий и легионелл (Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев, 1998).

Механизм действия хинолонов оказалось возможным установить после 1974 – 1976 г. г., когда была выделена ДНК-гираза – фермент, субъединицы которого катализируют и обеспечивают строго определенные этапы в процессе формирования необходимой укладки ДНК в хромосоме бактерий для подготовки ДНК к процессу репликации (Н.И. Фадеева и др., 1993; D.C. Hooper, J.S. Wolfson, 1993; L.J.V. Piddock et al., 1990; L.L. Shen, 1993; J.T. Smith, C.S. Lewin, 1988). ДНК-гираза бактерий избирательно высоко чувствительна к хинолонам, особенно к фторхинолонам. В результате образования комплекса хинолона (фторхинолона) с ДНК и одной из субъединиц ДНК-гиразы нарушается функция фермента и не осуществляется процесс суперспирализации, что приводит к нарушению деления, бактериостазу и к быстрой гибели клетки, т. е. к бактерицидному эффекту.

Высокую бактерицидную активность фторхинолонов связывают с ингибированием не только ДНК-гиразы, но и ее гомолога – топоизомеразы IV (К. Drilca, X. Zhao, 1997). Причем в грамотрицательных бактериях

первичной мишенью является ДНК-гираза, а вторичной – топоизомераза IV, которая в грамотрицательных микроорганизмах менее чувствительна к фторхинолонам. В грамположительных бактериях, наоборот, топоизомераза IV является первичной мишенью.

Суббактериостатические концентрации фторхинолонов оказывают повреждающее действие на микробную клетку. При этом снижаются адгезивные свойства бактерий, возможно подавление выработки экзотоксинов и экзоферментов, снижение вирулентных свойств в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* (В. Буш и др., 1993; P.A. Todd, D. Faulds, 1991; A.N. Wadworth, K.L. Goa, 1991). Хинолоны более интенсивно, чем большинство других антибиотиков, проникают в макрофаги и гранулоциты и, следовательно, эффективны для лечения болезней, возбудители которых выживают в фагоцитах (Соврем. микробиол. Прокариоты, 2005).

Многие авторы считают, что антибиотики могут угнетающе действовать на процессы иммуногенеза и выступать в роли иммунодепрессантов. Однако во многих случаях антибактериальные препараты, как и большинство других ксенобиотиков, оказывают на иммунитет дозозависимый эффект. Б.В. Виолин с сотр. (2001) сообщают, что фторхинолоны, особенно энрофлоксацин и ципрофлоксацин, в терапевтической дозе повышали фагоцитоз и внутриклеточный киллинг микроорганизмов, а также стимулировали синтез иммуноглобулинов классов G, M и A.

Развитие резистентности бактерий в первую очередь связано с мутациями ДНК-гиразы, приводящими к снижению чувствительности фермента к фторхинолонам. Еще одной причиной может быть снижение проницаемости внешней мембраны бактерий в связи с повреждением проницаемости пориновых каналов или нарушение проницаемости липополисахаридного слоя. Это приводит к снижению проникновения не только фторхинолонов внутрь клетки, но и других антибактериальных

препаратов, что может быть причиной развития перекрестной устойчивости (С.В. Сидоренко и др., 1996; L.J.V. Piddock, 1995; 1997; Н. Yoshida, 1995).

Также установлена возможность развития резистентности к фторхинолонам по типу плазмидной. Выделены плазмиды, несущие ген резистентности к нескольким препаратам, включая фторхинолоны. Этим объясняется перекрестная устойчивость бактерий в пределах нескольких классов антибиотических веществ (Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев, 1998).

Несмотря на то, что частота спонтанных мутаций, обуславливающих устойчивость к фторхинолонам, очень низкая – 10^{-9} - 10^{-11} , в эксперименте в результате последовательных пассажей на средах с возрастающими концентрациями препарата удается достаточно быстро получить резистентные варианты. На клинических штаммах *E. coli*, *P. aeruginosa* и *Proteus* изучалась способность индуцировать их устойчивость в присутствии субтормозящих концентраций ципрофлоксацина. В результате МПК ципрофлоксацина, офлоксацина, норфлоксацина и налидиксовой кислоты для всех культур *in vitro* повысились, но не выше, чем в 10 раз в сравнении с МПК дикого штамма (S. Esposito, S. Noviello, 1991).

Принципиальным отличием фторхинолонов от нефторированных препаратов является достаточно медленное развитие у них резистентности. Английские исследователи K.D. Culshaw и G.S. Tillotson (1991) на протяжении 4 лет изучали более 30 тыс. штаммов *E. coli*, более 5 тыс. штаммов *P. aeruginosa*, 15 тыс. штаммов энтеробактерий и 2 тыс. штаммов *H. Influenzae*. Несмотря на резкое возрастание частоты применения ципрофлоксацина, чувствительность к нему изучаемых штаммов бактерий изменилась незначительно.

Считается, что резистентность у клинических штаммов бактерий чаще развивается у видов, относительно менее чувствительных к фторхинолонам (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae* и др.) *in vitro* по сравнению с большинством более чувствительных грамотрицательных бактерий.

К числу наиболее активных фторхинолонов по действию на большинство грамотрицательных аэробных бактерий, обладая одновременно высокой активностью в отношении стафилококков, является ципрофлоксацин. Препарат разработан фирмой «Bayer» (Германия), представляет собой 1-циклопропил-6-фтор-1,4-дигидро-4-оксо-7(1-пиперазинил)-3-хинолон-карбоновую кислоту.

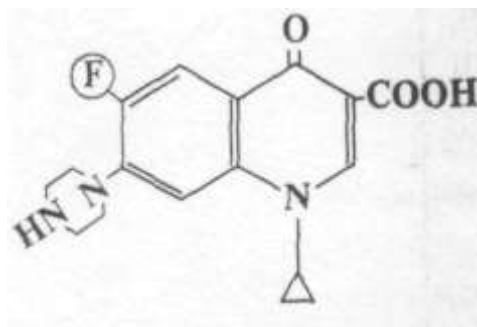


Рис. 1. Химическое строение ципрофлоксацина.

Являясь наиболее активным ингибитором ДНК-гиразы, ципрофлоксацин оказывает бактерицидное действие на размножающиеся и покоящиеся клетки преимущественно грамотрицательных бактерий, и характеризуется более длительным постантибиотическим эффектом. В отличие от других фторхинолонов ципрофлоксацин обладает преимуществом в отношении псевдомонад, для которых МПК составляют 0,016 – 2,0 мг/л, а также является наиболее активным по действию на большинство штаммов *P. aeruginosa* (Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев, 1998; Quinolone Antimicrob., 1993).

В организме человека ципрофлоксацин наиболее быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, достигая максимальных концентраций в крови через 1 – 1,5 часа. Препарат метаболизирует в организме в основном путем биотрансформации пиперазинового кольца в седьмом положении. При этом образуется 4 метаболита, обладающие антибактериальным действием: дезэтил-, сульфо-, оксо- и формил-ципрофлоксацин (В.П. Яковлев, 1993).

Опыты на собаках показали, что препарат из тканей выводится значительно медленнее: период полувыведения из тканевой жидкости после

однократной дозы составлял 17 – 20 часов, а из крови – 4 – 4,5 часа (С.Е. Green, S.C. Budsberg, 1993).

Опыты на экспериментальных животных (мышьях, крысах, кроликах, собаках) показали, что фторхинолоны являются относительно малотоксичными соединениями. Препараты, рекомендованные для медицинского применения, не проявляют канцерогенной и тератогенной активности, не оказывают мутагенного действия на клетки эукариотов. Отсутствие токсических эффектов при лечении инфекций у человека и животных объясняется тем, что фермент топоизомераза II эукариотов не катализирует в хромосомах человека процесс суперспирализации ДНК и отличается очень низкой чувствительностью к действию фторхинолонов (К. Hoshino et al., 1989; 1991; R.C. Moellering, 1995; K. Sato et al., 1989).

В экспериментах на крысах показано, что ципрофлоксацин в высоких дозах при щелочной реакции мочи может вызывать образование кристаллов, представляющих собой нерастворимые комплексы фторхинолона и его метаболитов с солями магния и белком (P.S. Lietman, 1995; R. Stahlmann, H. Lode, 1988; A.P.R. Wilson, R.N. Grüneberg, 1997).

Применение высоких доз фторхинолонов в эксперименте (до 20 – 60 мг/кг в сутки) может оказывать супрессивное действие на гемопоэз человека, которое является кратковременным и обратимым. Медицинская практика показывает, что эти препараты являются безопасными для лечения и профилактики инфекций у больных с заболеваниями гемопоэтической системы (Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев, 1995).

3.1. Применение фторхинолонов при бактериальных болезнях сельскохозяйственных животных и рыб

В условиях интенсивного животноводства, когда длительное применение традиционных антибиотиков способствовало появлению устойчивых ассоциаций бактерий, возникла потребность в более эффективных и удобных для групповых обработок химиотерапевтических средствах.

В 1990-е годы в России были впервые проведены опыты по внедрению в ветеринарную практику фторхинолонов на основе энрофлоксацина, обладающего широким спектром антимикробной активности в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, а также некоторых видов анаэробных патогенных бактерий и микоплазм. Аналоги данного препарата, производимого разными зарубежными фирмами, известны под названиями байтрил, энроксил, энрофлон, дадтрил. Они оказались эффективными лечебными препаратами при респираторных и желудочно-кишечных заболеваниях животных (А.В. Голиков и др., 1994; В.Ф. Ковалев и др., 1996; Е.М. Сазонова и др., 1998; А.А. Климов, 2004). Также были испытаны другие фторхинолоны. Флумеквин - фторированный аналог офлоксацина, не содержащий пиперазинильного заместителя в положении 7, применялся для лечения респираторных и желудочно-кишечных заболеваний свиней, телят, овец, птицы, а также различных инфекций мочеполовых путей с.-х. животных. Квинабик показал эффективность при лечении бронхопневмоний свиней и телят (В.Ф. Ковалев и др., 1996). Абактан использовался в хозяйствах, неблагополучных по колибактериозу, сальмонеллезу, отечной болезни, паратифу, гемофилезу, гастроэнтериту и дизентерии. При этом регистрировалось снижение отхода телят, поросят, щенят и цыплят в 1,5 – 5,6 раза (А.В. Киселев и др., 1998). Политрил рекомендован для применения в птицеводстве, а также для широкого производственного испытания при диспепсии телят (Н.Н. Олейник, 2003; Р.Т. Маннапова и др., 2002). Однако несмотря на то, что фторхинолоны характеризуются отличными фармакокинетическими свойствами и низким уровнем токсичности, применение их в ветеринарии ограничено из-за высокой стоимости и отсутствия их производства в нашей стране.

В последнее время за рубежом увеличивается количество синтетических антибактериальных препаратов, в том числе фторхинолонов, рекомендуемых для аквакультуры. В Германии и Франции в 1990-е годы для

лечения бактериальных инфекций рыб применялся в основном флумеквин. При продолжительности лечебного курса 6 – 7 дней смертность рыб снижалась уже на 4 – 5 день после начала лечения. Высокими антибактериальными свойствами обладал энрофлоксацин, что подтверждено экспериментально на лососевых рыбах, пораженных *A. salmonicida*, при введении им 10 мг/кг в течение 10 дней (P.R. Bowser a. o., 1990).

В.Н. Воронин и Е.В. Кузнецова (2003) считают, что в силу существенных недостатков левомицетина и тетрациклина им на смену должны придти, либо чередоваться с ними высокоэффективные фторхинолоны (флубактин и энрофлоксацин).

Польские исследователи определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) 22-х антимикробных препаратов для *A. hydrophila* и *A. sobria*, выделенных от карпов методом разведения на агаре Мюллера – Хинтона. Наиболее активным оказался энрофлоксацин, для которого МПК₉₀ составила 0,25 мг/л (L. Guz, A. Kozinska, 2004).

Высокую лечебно-профилактическую эффективность показал в опытах на угрях и белых амурах препарат «Энротим-10», действующим веществом которого также послужил энрофлоксацин (Э.К. Скурат и др., 2005). Антибиотик вводили перорально при помощи катетера одновременно с заражением вирулентными аэромонадами и на 2 – 3 сутки после заражения при появлении признаков болезни.

В нашей стране с недавнего времени стал применяться для борьбы с бактериальными болезнями рыб новый антибактериальный препарат «Антибак» на основе ципрофлоксацина, разработанный научно-внедренческим центром «Агроветзащита». Препарат защищен патентом РФ и внесен в «Кадастр лечебных препаратов, используемых и апробированных в аквакультуре России и за рубежом» (П.П. Головин и др., 2005). Впервые 2 модификации – Антибак 100 и Антибак 500 были испытаны в крупных рыбоводных хозяйствах «Черепетском» Тульской области и «Клинском» Московской области, где показали высокую терапевтическую активность при

лечении карпа, пораженного аэромонозом и псевдомонозом (К.О. Ярошевич, 2003; Л.И. Грищенко, В.Г. Енгашев, Л.Н. Юхименко, 2003; В.Г. Енгашев и др., 2005). Сравнительное изучение антибактериальной активности и широты спектра действия окситетрациклина, бактопура и Антибака выявило явное преимущество последнего. Применение при аэромонадной инфекции у декоративных карпов кои подтвердило его высокую лечебную и профилактическую эффективность (В.Г. Енгашев, В.Н. Дементьев, 2005; К.В. Гаврилин и др., 2005).

Выделенные культуры *A. hydrophila* от 12 видов заболевших прудовых и декоративных рыб в Шри-Ланке оказались высокочувствительными к норфлоксацину и флумихину. При этом все изоляты аэромонад были устойчивы к тетрациклину, триметоприму, сульфаметаксазолу, стрептомицину (D.C. Nettiarachchi, C.H. Cheong, 1994).

Изучение фармакокинетики некоторых фторхинолонов показало, что они быстро всасываются и сохраняются в организме рыб на бактериостатическом уровне в несколько раз дольше, чем у теплокровных животных и человека. G. Lewbart et al. (1997) установил, что максимальная концентрация энрофлоксацина в плазме крови *Colossoma brachyromum* через несколько часов после внутримышечного, перорального введения и обработки рыб в растворе препарата составила: 1,64; 0,94; 0,17 мкг/мл соответственно. Через 48 – 72 часа после внутримышечного введения и обработки в растворе средняя плазменная концентрация энрофлоксацина была значительно выше МПК для большинства грамотрицательных патогенов рыб. При этом был обнаружен ципрофлоксацин как активный метаболит энрофлоксацина.

J.F.M. Nouws et al. (1988) проводил исследование фармакокинетики ципрофлоксацина в организме карпа, африканского сома и радужной форели при внутривенном и внутримышечном введениях в дозе 15 мг/кг. Препарат сохранялся в организме рыб на терапевтическом уровне 2 – 5 суток. После внутримышечного введения максимальные концентрации в плазме крови у

карпа и форели были достигнуты через 1 час и составили 3,49 и 2,37 мкг/мл соответственно. Период полураспада при внутривенном введении у 3-х видов рыб оказался на уровне 14 часов, а при внутримышечном введении у карпа – 20 часов, у форели – 23 часа, в то время как у человека, свиней и телят этот показатель составлял 2,5 – 5 часов.

Японскими учеными (R. Palmer, K. Kawai, R. Kusuda, 1992) установлено, что новые хинолоны, особенно офлоксацин, ципрофлоксацин, тозуфлоксацин проявляли *in vitro* более высокую активность, не только в отношении грамотрицательных патогенов рыб, но и в отношении некоторых штаммов грамположительных бактерий, устойчивых к ранним хинолонам (флумихину, оксолиновой, налидиксовой, пиромидиновой кислотам, миллоксацину). Причем на активность новых хинолонов меньше влияли сыворотка, рН или добавление Mg, чем на таковую ранних хинолонов.

Бактерии рода *Aeromonas*, выделенные из разных источников, в том числе из рыбы, могут значительно различаться по чувствительности к антибиотикам. Так, результаты исследований, полученные мексиканскими исследователями (G. Castro-Escarpulli et al., 2003) свидетельствуют, что наилучшим антибактериальным эффектом против аэромонад, изолированных от замороженной товарной тилапии *Oreochromis niloticus niloticus*, обладали хинолоны первого поколения (налидиксовая кислота). В отличие от ципрофлоксацина, к которому число чувствительных культур составило всего 41,5%, к налидиксовой кислоте оказались чувствительными 100% выделенных культур. Другие авторы сообщают, что 100% аэромонад (*A. hydrophila*, *A. cavia*, *A. sobria*), выделенных из внешней среды и от человека, чувствительны к ципрофлоксацину, а также к цефалоспорином II и III поколения (P. Kämpfer et al., 1999; J. Vila et al., 2002).

Несмотря на активное применение в рыбоводстве фторхинолоновых препаратов за рубежом и перспективу внедрения их в России до сих пор остаются недостаточно изученными фармакологические свойства ципрофлоксацина при бактериальных болезнях рыб. Это послужило для нас

основанием провести максимально полное изучение препарата Антибак в экспериментальных и производственных условиях, дать оценку его лечебно-профилактической эффективности при аэромонозе, псевдомонозе и флексибактериозе рыб и безопасности применения в рыбоводстве.

II. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Материал и методы

Работа выполнена в 2002 – 2009 г.г. на кафедре пчеловодства, рыбоводства, болезней пчел и рыб МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, рыбхозе «Клинский» Московской обл., Новомичуринском рыбхозе Рязанской обл., частично в ООО «Русская рыбалка», рыболовно-спортивном комплексе «Ромашково».

Изучение лечебно-профилактической эффективности и безопасности препаратов серии Антибак проводили согласно методикам и требованиям по испытанию и стандартизации лекарственных средств для животных, предъявляемым к новым лекарственным средствам с учетом особенностей рыб как водных пойкилотермных животных.

Исследования включали в себя следующие этапы (рис. 1.):

- эпизоотологическое обследование рыбоводных хозяйств по общепринятой схеме;
- выделение, идентификацию и определение патогенности возбудителей аэромоноза, псевдомоноза и флексибактериоза рыб из неблагополучных рыбхозов;
- определение чувствительности выделенных бактерий к фторхинолоновым препаратам *in vitro*;
- изучение фармакокинетики, фармакодинамики и токсичности препаратов при разных способах введения в организм рыб;
- определение лечебно-профилактической эффективности препаратов при аэромонозе, псевдомонозе и флексибактериозе в лабораторных и производственных условиях.

В лабораторных опытах использовали 865 сеголеток карпа. Производственная проверка проведена на 411000 двух-, трех- и четырехлетках карпа, 20000 сеголетках радужной форели, 15000 мальках и сеголетках сибирского осетра.

В качестве испытуемых лекарственных средств использовали готовые лекарственные формы антибактериальных препаратов Антибак 100, Антибак



Рис. 2. Схема исследований и постановки опытов

500 и Антибак 250, любезно предоставленные в наше распоряжение Научно-внедренческим центром «Агроветзащита». Действующим веществом обоих препаратов является ципрофлоксацин.

Антибак 100 представляет собой нерастворимый в воде порошок, содержащий в 1 г 100 мг действующего вещества ципрофлоксацина гидрохлорида моногидрата и вспомогательный компонент лигносульфонат. Препарат предназначен для перорального применения с комбикормом.

Антибак 500 – растворимый в воде порошок, содержащий в 1 г 500 мг действующего вещества ципрофлоксацина гидрохлорида в форме лактата, а также вспомогательный компонент лактозу. Он применялся в форме лечебного раствора наружно и внутривентриально. Антибак 250 – растворимая

в воде таблетированная форма, содержащая в 1 г 250 мг субстанции ципрофлоксацина, использовался только в виде лечебного раствора.

Для бактериологических исследований использовали 178 рыб из неблагополучных по аэромонозу прудовых хозяйств – ЗАО «Рыбхоз Клинский» и ООО «Русская рыбалка», по псевдомонозу из рыболовно-спортивного комплекса «Ромашково» (Московская обл.), по флексибактериозу из тепловодного хозяйства – Новомичуринского рыбхоза (Рязанская обл.). При аэромонозе и псевдомонозе отбирали карпов с острой септической, подострой септико-язвенной и хронической язвенной формами болезней. При флексибактериозе отбирали форель и сибирского осетра с кожными и жаберными поражениями.

С целью выделения возбудителей аэромоноза и определения микробного пейзажа проводили эпизоотологическое обследование и бактериологическое исследование в «Рыбхозе Клинский» с июня по сентябрь 2002 года с периодичностью 1 раз в 14 дней в нагульных прудах №1, 2 Владимирского, №2, 3, 4 Дятловского и №1, 3, 4 Яузского участков.

В Новомичуринском рыбхозе с марта по октябрь 2003 года проводились периодические исследования по диагностике флексибактериоза среди сеголеток форели, мальков и сеголеток сибирского осетра: в марте, апреле, мае, заключительное – в октябре.

Выделение возбудителей аэромоноза, псевдомоноза и флексибактериоза и их идентификацию проводили по схеме, принятой в ихтиопатологии (В.А. Мусселиус и др., 1983; Сб. инстр. по борьбе с бол. рыб, 1998; Л.И. Грищенко и др., 1999). Первичные посевы из крови, асцитной жидкости, печени, почек, селезенки осуществляли на чашки Петри с агаром Эндо и инкубировали в термостате при температуре 26 - 28°C в течение 48 часов. Полученные изолированные колонии отсевали на скошенный МПА для получения чистой культуры и инкубировали при той же температуре 18 – 20 часов.

Групповую дифференциацию выделенных бактерий проводили с использованием окраски по Граму классическим методом и синькой Леффлера. Для определения оксидазной активности применяли диметил-парафенилендиамина дигидрохлорид. Культуры пересевали в пробирки со средой Хью-Лейфсона с целью определения родовой принадлежности бактерий по ферментации глюкозы в аэробных и анаэробных условиях. Биохимические свойства аэромонад и энтеробактерий изучали на пластинах биохимических дифференцирующих энтеробактерии (ПБДЭ).

Для типирования бактерий до вида использовали таблицы и схемы, изложенные в «Определителе бактерий Берджи» (1997), «Определителе зоопатогенных микроорганизмов» (под ред. М.А. Сидорова, 1995), «Медицинской микробиологии» (под ред. В.И. Покровского, 1999) и Методических указаниях по лабораторной диагностике псевдомонозов рыб, утвержденных Департаментом ветеринарии, 1998 (в Сб. инстр. по борьбе с бол. рыб, 1998).

Для определения *патогенности* выделенных культур ставили биопробы на сеголетках карпа массой 25 – 30 г, завезенных из благополучного по бактериальным болезням хозяйства. Предварительно готовили 2х-суточную культуру на скошенном МПА. Затем делали смыв стерильным физиологическим раствором, доводя концентрацию микробных тел по оптическому стандарту мутности до 10 ед. (1 млрд. м. т./мл). Полученную взвесь вводили рыбам внутривентально в количестве 0,2 мл (200 млн. м. т.). Контролем служили группы рыб, которым вводили в той же дозе стерильный физраствор. Рыб содержали в ваннах объемом 180 л при температуре 18 - 21°C. Наблюдение за рыбами вели 10 дней. Полученные результаты оценивали положительно при наличии характерных клинических признаков заболевания, патологоанатомических изменений, смертности не менее 50% рыб и выделению исходного возбудителя от больных и погибших рыб (А.И. Канаев, 1971; Инструкция по борьбе с аэромонадом карповых рыб, 1998 в Сб. инстр. по борьбе с бол. рыб, 1998).

Чувствительность аэромонад, псевдомонад и флексибактерий к фторхинолоновым препаратам определяли методами диффузии в агар и серийных разведений в жидкой питательной среде (В.С. Дмитриева, С.М. Семенов, 1965; М.О. Биргер и др., 1973).

Метод диффузии в агар использовали для сравнительного определения чувствительности к цiproфлоксацину, энрофлоксацину и норфлоксацину штаммов аэромонад *A. sobria* «Кл-152», *A. hydrophila* «Кл-222», *A. schubertii* «ХК-5» и псевдомонад *Pseudomonas* sp. – «Кл-3», «Кл-39», «Кл-241», выделенных от условно здоровых и больных карпов. Стандартные чашки Петри заполняли МПА, приготовленным на 1,5%-ном агаре Хоттингера рН 7,0 – 7,4 с содержанием не менее 100 мг% аминного азота, слоем в 4 – 5 мм. После застывания агар подсушивали в термостате при температуре 37°C в течение 20 минут. Предварительно высевали на скошенный МПА соответствующие культуры бактерий и инкубировали 18 – 20 часов при температуре 28°C. На поверхность агара наносили 1 мл смыва испытуемой культуры с концентрацией 1 млрд. м. т./мл физраствора, равномерно распределяли, избыток суспензии удаляли пипеткой, а чашки подсушивали в термостате. В каждой чашке с агаром стерильным шупом пробивали по 3 лунки и в каждую вносили дозатором по 0,1 мл раствора, содержащего 1 мкг ДВ/мл исследуемого препарата, после чего инкубировали в термостате 18 – 20 часов при температуре 28°C. Результаты оценивали путем измерения диаметра зоны задержки роста бактерий для каждого препарата.

Метод серийных разведений в МПБ применялся для определения бактериостатической и бактерицидной концентраций цiproфлоксацина в отношении аэромонад и псевдомонад, выделенных от клинически больных карпов, осетров, форели. Для приготовления серийных разведений использовали основной раствор цiproфлоксацина, содержащий 1 мг д. в. в 1 мл раствора. Культуры бактерий, проверяемые на чувствительность к препарату, выращивали на МПА 18 – 24 часа, готовили взвесь, эквивалентную 1 млрд. м. т./мл. В штатив устанавливали 12 пробирок и в

каждую наливали по 2 мл бульона. В первую пробирку вносили 2 мл основного раствора препарата, взбалтывали и затем последовательно переносили 2 мл жидкости из первой пробирки во вторую, после этого 2 мл смеси из второй пробирки – в третью и т. д. до одиннадцатой пробирки включительно. Из одиннадцатой лишние 2 мл взвеси удаляли. Таким образом, каждая последующая пробирка содержала в 2 раза меньше препарата, чем предыдущая. Контролем служила 12-я пробирка, не содержащая ципрофлоксацина. Затем в каждую пробирку вносили по 0,2 мл суспензии бактерий концентрацией 1 млн. м. т./мл. Посевы инкубировали при 28°C 18 – 24 часа.

За бактериостатическую или минимальную подавляющую рост микроорганизма концентрацию (МПК) принимали наименьшую концентрацию препарата, при которой отсутствовал рост микроорганизма.

Для определения бактерицидной концентрации препарата из пробирок с отсутствием видимого роста производили высевы на МПА. Из каждой пробирки брали по 0,05 мл содержимого, тщательно смешивали с 15 мл расплавленного и охлажденного до 42°C агара и выливали в чашки. Количество выросших колоний учитывали через 48 часов инкубирования в термостате. За наименьшую бактерицидную концентрацию принимали концентрацию препарата в той пробирке, посевы из которой не давали роста на МПА или давали рост единичных колоний.

Изучение фармакокинетики ципрофлоксацина в организме сеголеток карпа проводили методом диффузии в агар (В.С. Дмитриева, С.М. Семенов, 1965; М.О. Биргер и др., 1973). В качестве тест-микроба использовали штамм *Bacillus subtilis* АТСС 6633, полученную во «Всероссийском государственном Центре качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»). Тест-культуру выращивали 18 – 20 часов при температуре 37°C на скошенном агаре. Делали смыв физраствором и готовили взвесь с концентрацией 5 ед. по оптическому стандарту мутности. Для получения микробного газона на поверхность МПА

в чашки Петри вносили по 0,1 мл полученной микробной взвеси и равномерно распределяли шпателем. Через 20 – 30 минут в агаре с помощью трафарета стерильным щупом пробивали по 6 лунок диаметром 8 мм.

Основной раствор стандарта готовили путем растворения 1 мг д. в. ципрофлоксацина в 1 мл дистиллированной воды. Из раствора, содержащего 10 мкг/мл ципрофлоксацина готовили 17 растворов, содержащих от 10 до 0,1 мкг/мл испытуемого вещества. С помощью стандартной капельницы в каждую лунку вносили по 0,1 мл приготовленных растворов стандарта (по 2 чашки на каждую концентрацию). Чашки выдерживали в термостате 18 – 20 часов при 37°C, после чего при помощи линейки и циркуля измеряли зоны задержки роста тест-микроба. Таким образом, для каждой концентрации стандарта вычисляли среднее арифметическое значение из 12 показателей. По полученным значениям строили стандартную кривую на полулогарифмической сетке. По ней определяли концентрацию и распределение ципрофлоксацина в организме карпов после введения препарата разными способами.

Вначале у рыб, которым не вводили препарат, подвергали исследованию кровь и внутренние органы на наличие ингибиторов, способных подавлять рост тест-культуры, тем же методом и с тем же тест-микробом.

Для *перорального применения* Антибак 100 смешивали с водой с таким расчетом, чтобы концентрация действующего вещества препарата в 1 мл соответствовала испытуемым дозам 20 мг/кг и 100 мг/кг живой массы рыб. Суспензии вводили в передний отдел кишечника однократно с помощью зонда, присоединенного к шприцу в количестве 1 мл на сеголетка карпа.

Для *внутрибрюшинного применения* Антибак 500 растворяли в дистиллированной воде и вводили рыбам однократно с помощью шприца под брюшной плавник в 3-х дозах по д. в.: 2,5; 5; 10 мг/кг живой массы рыб.

При *наружном применении* рыб помещали в раствор Антибака 500 с концентрацией 25 мг/л. Содержание препарата определяли после

однократной 5-ти часовой обработки и ежедневной обработки рыб в течение 5 дней подряд с той же экспозицией.

Опыты ставили на сеголетках карпа массой 15 – 25 г в бытовых ваннах на дехлорированной водопроводной воде, отвечающей рыбоводным требованиям, при температуре 18 - 21°C. В каждой опытной группе исследовали не менее 6 экз. рыб.

Концентрацию ципрофлоксацина определяли через 1, 2, 3, 4, 5, 24 часа после введения препарата, а затем ежедневно до получения отрицательного результата. С этой целью отбирали по 3 рыбы для приготовления смешанной пробы. Предварительно засеивали чашки Петри с МПА тест-культурой вышеописанным методом и пробивали по 6 лунок. Кровь брали пастеровской пипеткой из сердца, помещали в стерильные пробирки. После отстаивания сыворотку крови вносили в 2 лунки по 0,1 мл. К смешанным пробам паренхиматозных органов (печени, почек, селезенки), а также пробам мышц и кишечника с его содержимым добавляли дистиллированную воду в соотношении 1:1 и растирали в ступке с песком. Полученную взвесь каждой пробы вносили также в 2 лунки по 0,1 мл для расчета средней зоны задержки роста тест-культуры по 2-м значениям. Инкубацию проводили 18 – 20 ч. при 37°C.

Изучение *токсического действия* препарата проводили на сеголетках карпа в острых опытах при температуре воды 20°C путем внутрибрюшинного и перорального введения ципрофлоксацина, содержащего 100% действующего вещества.

Для внутрибрюшинного введения препарат растворяли в водопроводной кипяченой воде и вводили однократно в дозах по д. в.: 200, 500, 1000, 1500 мг/кг живой массы рыб. Контрольным рыбам вводили водопроводную кипяченую воду без препарата.

Для перорального введения препарат сначала растворяли в воде при нагревании до 90 - 100°C, затем добавляли 2%-ный раствор крахмала. Полученную суспензию вводили через зонд с помощью шприца в дозах по д.

в.: 1000, 2000, 2500, 3000 мг/кг. Каждую дозу вводили 1 раз в сутки 3 дня подряд. Контрольным рыбам вводили 2%-ный крахмальный клейстер. Длительность опытов составляла 6 суток.

В конце опытов дополнительно брали кровь из сердца, вырезали кусочки органов для гистологических исследований. Гематологические исследования проводили на 48 рыбах. Они включали: определение числа эритроцитов и лейкоцитов с помощью камеры Горяева (Г.Г. Голодец, 1955), содержания гемоглобина по Сали, выведение лейкограммы. Окраску мазков крови проводили по Паппенгейму. Оценку качественных изменений клеток крови карпов проводили по Н.Т. Ивановой (1983) и Л.Д. Житеневой и др. (1989). Для гистологических исследований патматериал отбирали от 23 свежепогибших и вынужденно убитых рыб с ярко выраженными признаками отравления, условно здоровых и контрольных рыб. В качестве патматериала использовали печень, почки, селезенку, кишечник, сердце, которые фиксировали 5 – 10%-ным раствором нейтрального формалина. Окраску срезов проводили гематоксилин-эозином общепринятым методом.

В условиях Новомичуринского рыбхоза были поставлены ориентировочные опыты по определению токсичности Антибака 250 для мальков сибирского осетра. Для этого по 5 мальков помещали в ванночки емкостью 30 л с концентрациями растворов препарата 500, 100, 50 и 20 мг/л (по д. в.). Учет результатов опыта проводили по клиническим признакам интоксикации и выживаемости рыб.

По результатам опытов определяли параметры токсичности препарата при разных способах введения. Среднесмертельную дозу рассчитывали по Керберу:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum (E \cdot D)}{n}, \text{ где}$$

ЛД₁₀₀ – доза препарата, которая вызывает смертельный исход у всей группы рыб;

E – интервал между каждыми двумя смежными дозами;

D – среднее арифметическое из числа рыб, у которых наблюдался

летальный исход под влиянием каждой двух смежных доз;

n – число рыб в каждой группе.

С целью изучения *антибактериальной активности Антибака при болезнях рыб* в лабораторных условиях поставлены 2 серии опытов:

- по определению профилактической эффективности;
- по определению лечебной эффективности с использованием разных способов и кратностей введения препаратов в организм рыб.

Опыты ставили по сходным методикам в аквариумах емкостью 40 л или бытовых ваннах (180 л) при температуре 18 - 21°C на сеголетках карпа массой 20 – 25 г, полученных из благополучного по инфекционным болезням хозяйства (ЭПБ ВНИИР). Воспроизведение соответствующего заболевания проводили путем внутрибрюшинного заражения сеголеток карпа вирулентными культурами *A. sobria* и *Pseudomonas sp.*, выделенными от клинически больных рыб. Рыбам вводили препараты одно-5-тикратно разными способами, а лечебно-профилактический эффект оценивали путем заражения рыб вирулентными культурами *A. sobria* и *Pseudomonas sp.* в предварительно оттитрованных дозах инфекционного материала. Взвесь 2-х суточных агаровых культур бактерий вводили внутрибрюшинно в дозах 100 – 200 млн. м. т. (0,1 – 0,2 мл с концентрацией 1 млрд. м. т./мл) на одну рыбу: в первой серии опытов – до обработки Антибаком, во второй – после обработки Антибаком.

Контролем служили зараженные теми же культурами рыбы, не подвергавшиеся обработке Антибаком. В опытные и контрольные группы брали не менее 10 экз. рыб, наблюдение за которыми вели в течение 10 дней. В ходе всех опытов рыб кормили гранулированным комбикормом. Результаты учитывали по заболеваемости и смертности рыб. От всех погибших рыб делали высевы их патматериала для выделения исходных культур.

Производственные испытания препарата Антибак проведены по разрешению Департамента ветеринарии МСХ РФ в рыбхозах Московской и Рязанской областей на двух-, трех- и четырехлетках карпа, сеголетках радужной форели, мальках и сеголетках сибирского осетра.

В неблагополучном по аэромонозу карпов рыбхозе «Клинский» Московской области в июне – июле 2002 г. проведен производственный опыт по испытанию эффективности Антибака 100 на 2-х-, 3-х-, 4-х и 5-ти летках карпа в нагульных прудах при применении его в составе лечебного комбикорма. Гранулированный комбикорм с добавлением Антибака 100 из расчета 1 – 2 г/кг корма скармливали в течение 3 – 5 дней по норме кормления 5% к массе рыб.

В последующие годы (2003 – 2008) эффективность Антибака при аэромонозе анализировали по результатам его применения и в других рыбхозах («Нарские острова» Московская область, «Рыбколхоз им. И.В. Абрамова» Ростовская область).

В рыбхозе «Новомичуринский» Рязанской области в марте – июне 2003 года поставлены полупроизводственные опыты по определению эффективности Антибака 100 и Антибака 250 при флексибактериозе мальков и сеголетков форели и сибирского осетра.

Результаты производственных опытов учитывали по изменению клинической картины до и после обработок, выживаемости рыб в конце опытов, а также по результатам бактериологического контроля динамики обсемененности органов рыб.

Схемы опытов представлены в разделе 2. «Результаты собственных исследований».

Количественные показатели результатов исследований подвергали вариационно-статистическому анализу с использованием программного обеспечения PC Microsoft Excel 2003. Достоверность различий оценивали на основании критерия Стьюдента.

2. Результаты собственных исследований

2.1. Эпизоотическая ситуация в рыбхозах Московской и Рязанской областей по аэромонозу, псевдомонозу и флексибактериозу

Изучение эпизоотической ситуации по аэромонозу карпов проводили в ЗАО «Рыбхоз Клинский» с мая по сентябрь 2002 г. и с мая по июль 2003 г. Данное предприятие – одно из крупнейших рыбоводных хозяйств Московской области, расположено в 30 км от г. Клин на границе с Завидовским государственным заповедником, введено в эксплуатацию в 1965 году как полносистемное карповое хозяйство с проектной мощностью 800 тонн товарной рыбы в год. Оно включает в себя выростные, зимовальные и нагульные пруды, зимовальный комплекс, инкубационный цех. Общая площадь составляет около 1000 га прудов, расположенных на 3 участках: Дятловском, Владимирском и Яузском. Все пруды с независимым водоснабжением, проточные, полностью спускные.

Стадо производителей представлено тремя линиями карпа – местной, парской и румынской. В хозяйстве принят 3-хлетний оборот и применяется полуинтенсивная технология выращивания карпов в монокультуре и реже в поликультуре с растительноядными рыбами.

Согласно ветеринарной отчетности «Рыбхоз Клинский» с 1989 года является неблагополучным по аэромонозу карпов, оздоровление его проводится комплексным методом. Однако из-за неполноты проводимых мероприятий, недостаточного и нерегулярного применения лечебных средств, дезинфектантов, а также экономических трудностей хозяйство до сих пор не оздоровлено. Заболевание протекает в основном подостро или хронически, не вызывая массовой гибели рыб.

В период выполнения работы нами проведены более подробные обследования основных неблагополучных прудов в течение весенне-летнего и осеннего периодов 2002 и 2003 г. г. с целью выяснения текущей эпизоотической ситуации и выделения возбудителя болезни.

В начале мая 2002 года заболеваемость карпов аэромонозом в нагульных прудах Яузского, Владимирского и Дятловского участков составила 2 – 8%. С целью профилактики острой вспышки болезни в хозяйстве проведены плановые мероприятия. Часть прудов с наибольшим поражением рыб были обработаны в мае месяце препаратом ДОН-1, другая часть – гипохлоритом кальция и негашеной известью. Кроме этого в неблагополучных прудах №1, 3, 4 Яузского участка, №1, 2 Владимирского и №2 Дятловского участков рыбу прокормили комбикормом с субалином. Однако снижения пораженности карпов отмечено не было, а в июне-июле по нашим данным в некоторых прудах она возросла до 36,6 % (табл. 1).

При клинико-анатомическом исследовании было установлено, что аэромоноз протекал в основном хронически. Заболевание проявлялось у 2-х, 3-х, 4-х летних карпов точечными или пятнистыми кровоизлияниями на коже, покраснением и частичным разрушением плавников, гиперемией анального кольца, а также язвами на боковых стенках и хвостовом стебле (рис. 3). У отдельных особей наблюдалось очаговое ерошение чешуи, асцит.

С июня по август 2002 года нами проведены 6-тикратные бактериологические исследования двух-, трех- и четырехлеток карпа. При этом была выделена в основном смешанная микрофлора, включающая следующие роды и виды бактерий: *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Flexibacter*, *Plesiomonas*, *Enterobacter* и редко *E.coli*. Характерно, что вирулентные и авирулентные аэромонады были изолированы в прудах всех исследованных участков рыбхоза (Дятловский пруд №2, Владимирский пруд №2 и Яузские пруды №1, 2, 3). Таким образом, нашими исследованиями подтвержден диагноз на аэромоноз (хроническое течение).

В последующие годы было продолжено наблюдение за эпизоотическим состоянием данного хозяйства. В середине мая 2003 года в отдельных нагульных прудах отмечены лишь единичные случаи аэромоноза.

Таблица 1

Заболееваемость карпов аэромонозом
 ЗАО «Рыбхоз Клинский» в июне-июле 2002 г.

Дата обследования	Участок, № пруда	Площадь пруда, га	Возраст карпов	% больных	Обработаны препаратами
20.06.2002	Дятловский, №2	155	K ₂₊₃₊	33	субалин, ДОН-1
20.06.2002	Дятловский, №4	102	K ₃₊	26	-
20.06.2002	Яузский, №4	3	K ₃₊₅₊	30	субалин, ДОН-1
20.06.2002	Владимирский, №2	50	K ₂₊₃₊	30	субалин, гипохлорит кальция
02.07.2002	Яузский, №1	95	K ₁₊	8	субалин, негашеная известь
02.07.2002	Яузский, №2	83	K ₃₊	5	-
02.07.2002	Яузский, №3	103	K ₃₊	17	субалин, ДОН-1
03.07.2002	Дятловский, №2	155	K ₂₊₃₊	36,6	субалин, ДОН-1
22.07.2002	Дятловский, №3	90	K ₁₊	35,2	-
31.07.2002	Владимирский, №1	55	K ₁₊	1,6	субалин, гипохлорит кальция
09.08.2002	Яузский, №1	95	K ₁₊	15	субалин, негашеная известь
09.08.2002	Яузский, №3	103	K ₃₊	12	субалин, ДОН-1

В июле 2008 года были обследованы 3 нагульных и 1 выростной пруд, признаков аэромоноза не выявлено. В то же время отмечена вспышка бронхиомикоза, осложненная смешанной бактериальной микрофлорой, большую часть которой составляли бактерии рода *Aeromonas*. При этом



Рис. 3. Трехлетки карпа. Хроническая (язвенная) форма аэромоноза.
Эритремы на брюшке, язва в области хвостового стебля.

установлено высокое бактериальное обсеменение органов у клинически больных рыб из самых неблагополучных прудов (4 – 5 тыс. м. к./1 г ткани печени) и воды (ОМЧ от 4,2 до 20 тыс. КОЕ/мл).

В 2002 г. нами выявлен новый пункт, неблагополучный по аэромонозу карпов. Исследуемый пруд площадью 0,6 га, не проточный и не спускной, расположен в Московской области вблизи пересечения МКАД и Каширского шоссе, предназначен для любительской рыбной ловли, принадлежит ООО

«Русская рыбалка». В период обследования в пруду находилось более 2 тонн рыбы, из которой большую часть составляли 2-х, 3-х и 4-х летки карпа массой от 300 г до 1,5 кг. Совместно с карпом содержались и другие виды рыб товарной массы – радужная форель, щука, канальный сом, стерлядь. По мере вылова периодически завозилась и помещалась в пруд рыба из различных рыбоводных хозяйств, в том числе из неблагополучного по аэромонозу «Рыбхоза Клинский». В течение последующих трех лет эксплуатации (с сентября 2002 г. по июнь 2004 г.) водоем не осушался и не подвергался ветеринарно-санитарным обработкам.

При первоначальном клиническом осмотре карпов в 2002 году на боках, брюшке, голове обнаружены многочисленные язвы, как поверхностные небольшого размера, так и проникающие в глубокие слои мускулатуры вплоть до обнажения костей. В последующие 2 года летом также отмечены признаки более легкого хронического течения болезни – очаговые кровоизлияния на брюшке, покраснение и разрушение плавников, небольшие язвы в стадии заживления, очаги поражения сапролегниозом жабр и кожи.

По анамнестическим данным установлено, что причиной инфекции явилось нарушение порядка комплектования стада карпов – завоз и смешанная посадка рыб из благополучных и неблагополучных по аэромонозу хозяйств.

Бактериологические исследования больной рыбы из пруда ООО «Русская рыбалка» проводили в течение 3-х летних сезонов 2002 – 2004 г. г. В сентябре 2002 года были сделаны посевы из крови, почек, печени, селезенки от карпов с глубокими язвами. У всех рыб была отмечена высокая степень обсемененности крови и паренхиматозных органов чистой культурой *A. sobria* (изолят Каш-1). В биопробе на карпах и карасях она оказалась высоковирулентной. В последующие 2 лета (2003 и 2004 г. г.) от карпов с язвенной формой из крови, печени и почек были выделены вирулентные

культуры, относящиеся также к виду *A. sobria* (Каш-5, Каш-12, Каш-2). Это послужило для нас основанием установить диагноз на аэромоноз.

В мае 2004 г. нами проведено эпизоотологическое обследование водоема рыболовно-спортивного комплекса «Ромашково» в связи с подозрением на псевдомоноз. Руслый пруд рыболовно-спортивного комплекса расположен на реке Чаченка в селе Ромашково Одинцовского района Московской области. Пруд предназначен для любительской рыбной ловли, имеет площадь 4 га, проточный, гидрохимические показатели соответствуют нормативам, предъявляемым к рыбохозяйственным водоемам. Температура воды на момент обследования составляла 12°C. В пруду содержалось 4,5 тонны товарного карпа, около 400 кг осетра и форели, 100 кг щуки, а также местные виды рыб – окунь, плотва.

Вспышка заболевания отмечена после завоза товарного карпа массой 800 – 1000 г в количестве 1,5 тонны из неблагополучного по аэромонозу рыбхоза, расположенного в Башкирии. Отход рыб с признаками острого течения болезни (ерошение чешуи, пучеглазие, покраснение кожи) начался через 2 недели и достигал 50 кг в день.

Для бактериологического исследования были отобраны завезенные карпы с признаками острой инфекции – обширные покраснения кожи, двухстороннее ерошение чешуи, начальные стадии образования язв. В результате посева из крови и всех паренхиматозных органов было обнаружено множество однородных колоний. При идентификации выделенных бактерий установили, что они относятся к роду *Pseudomonas* и обладают высокой вирулентностью, что позволило подтвердить диагноз на псевдомоноз.

Эпизоотическую ситуацию по флексибактериозу радужной форели и сибирского осетра изучали в рыбхозе «Новомичуринский» Рязаньрыбпрома с ноября 2002 г. по октябрь 2003 г.

«Новомичуринский» рыбхоз является тепловодным хозяйством, расположенным на водохранилище при Рязанской ГРЭС, и состоит из следующих производственных объектов:

1. Инкубационный цех для инкубации икры осетровых и форели.
2. Система бассейнов и лотков емкостью от 0,5 до 15 м³ в крытом помещении для подращивания молоди осетровых и форели (личинки, мальки, сеголетки). До возраста малька рыб выращивают на артезианской воде, а сеголетки – на смешанной воде – артезианской и из водохранилища при температуре 18 - 20°C.
3. Водоснабжение инкубатора и бассейнов обеспечивается из 2-х артезианских скважин с системой оборотного водоснабжения.
4. Товарная рыба выращивается на садковой линии в делевых садках, расположенных на границе выхода сбросного канала ГРЭС в водохранилище. Температура воды зимой – 8-12°C, летом – 25-33°C. Осетровых выращивают до массы 2 кг, форель – 500 г.

Молодь кормят только импортными комбикормами (Германия, Дания, Финляндия) с рецептурой и размером гранул в соответствии с возрастом рыб. Суточные нормы кормления мальков и сеголетки осетровых составляли 2,5% от живой массы при температуре 20 - 30°C. Кормление товарной рыбы производится импортными производственными комбикормами.

На момент исследований в хозяйстве имелись следующие виды и возрастные группы рыб:

- сеголетки осетровых (сибирский осетр, белуга, стерлядь, гибриды) свыше 70 г – 27 тыс. экз. общей массой 11 тонн, размещены в садках;
- разновозрастные сеголетки форели – 66 тыс. экз. общей массой 9 тонн;

- товарный карп, закупленный в одном рыбхозе Рязанской области для передержки зимой и реализации весной и летом 2003 г. общей массой 65 тонн, размещен в садках;
- товарная рыба для реализации – разноразмерная форель и осетровые, которые реализуются партиями по мере достижения ими товарной массы.

При анализе документов и опросе сотрудников рыбхоза выяснено, что миксобактериоз в хозяйстве был зарегистрирован на сеголетках карпа в 1998 году и подтвержден диагностическими исследованиями сотрудников ВНИИПРХ. Затем с осени 1999 г. и в последующие годы заболевание начало проявляться на осетровых (сибирском осетре, стерляди, белуге, гибридах осетровых рыб) и продолжалось до момента наших исследований. При этом основной ущерб заболевание наносило молодежи осетровых массой 1 – 2 г и выше, выращиваемой на смешанной воде (артезианской и из водохранилища) при температуре 20 - 25°C в период с начала мая до начала июля. При более низкой температуре наступало затухание болезни, хотя слабые признаки полностью не исчезали. Заболевание сопровождалось гибелью молодежи до 30 – 50%. У товарных осетров, выращиваемых в садках, заболевание клинически не проявлялось.

Для лечения и профилактики болезни в хозяйстве применяли в основном окситетрациклин с кормом и хлорамин Б в растворе. Лечебные корма готовили непосредственно перед использованием, добавляя водную взвесь окситетрациклина к обычному комбикорму. С их помощью добивались некоторого снижения гибели рыб и затухания болезни, но полностью ее ликвидировать не удавалось, несмотря на многократные обработки.

Нами при первичном клиническом осмотре форели и осетровых в ноябре 2002 г. в 5 садках характерных признаков флексибактериоза не обнаружено. В то же время установлено, что среди сеголеток осетровых

имеется группа сильно отставших в росте рыб, составляющая примерно 6% от всего стада и содержащаяся в отдельных садках. При осмотре у сеголеток сибирского осетра и белуги отмечены покраснения на брюшке, гиперемия анального кольца и исхудание рыб. При вскрытии и патологоанатомическом исследовании этих рыб у некоторых из них обнаружено повышенное количество трансудата в брюшной полости, водянистая, бледно окрашенная кровь, печень темно-бурого цвета, в кишечнике – отсутствовал корм, т. е. рыбы не питались.

Обследованием разноразмерных сеголеток форели на фоне нормального роста, отсутствия сверхнормативного отхода и внешне нормального физиологического состояния у части рыб установлено поражение плавников в виде разрыхления краевых зон, распада межлучевых перегородок, отторжения краев плавников и их регенерации, а у единичных рыб – осложнение сапролегниозом с разрушением хвостового плавника.

В группе годовиков сибирского осетра (4 садка), отставших в росте, отмечена частичная гибель рыб. Клинические признаки, характерные для флексибактериоза, наблюдались примерно у 50% рыб. При этом обнаруживали пятнистые кровоизлияния у основания чешуи (жучек) в брюшных, боковых и спинных рядах, на хвостовом стебле и хвостовом плавнике, у некоторых особей отмечено разрушение и выпадение чешуи, а также поражение кожного покрова сапролегниозом от мелкоочаговых до крупных разлитых участков на разных частях тела. У единичных рыб вздуто брюшко и отмечены истечения жидкости из ануса и его покраснение (рис. 4). Жабры структурно нормальные, но несколько побледневшие. В группе условно здоровых годовиков признаков болезни на коже и жабрах не обнаружено.

При патологоанатомическом вскрытии в обеих группах рыб печень была бледной, имела серо-белую окраску, анемичная. Особенно сильно печень изменена в группе больных рыб – серо-белого цвета, дряблая, на



Рис. 4. Годовики сибирского осетра. Кровоизлияния у основания жучек.

разреze рыхлая, паренхима легко соскабливается. У внешне здоровых рыб (2 группа) она более плотная, также разрыхлена, но в меньшей степени.

У единичных больных рыб отмечено увеличение прозрачной жидкости в брюшной полости и вздутие кишечника, а также сильное разрыхление почек, которые на разрезе имели мажущуюся консистенцию или сильно разжижены. Кровь у них водянистая, бледно-розовая, что указывает на анемию.

Для бактериологического исследования был отобран патматериал от содержащихся в 5 садках отставших в росте сеголетков осетровых, имевших покраснения на брюшке. Из крови, жабр, жучек, асцитной жидкости, смешанных проб печени и почек выделены бактерии родов: *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Flexibacter*, *Plesiomonas*, *Flavobacterium*, кокки в монокультуре и в смешанной ассоциации. От сеголетков форели с признаками покраснения и разрушения грудных, брюшных и хвостового плавников из внутренних органов выделены бактерии родов *Flexibacter* и *Flavobacterium*, а из язв – бактерии рода *Pseudomonas*. В биопробе на карпах все культуры оказались авирулентны.

Таким образом, у условно здоровых осетровых и форели установлено бактерионосительство условно патогенных микроорганизмов, которое обусловлено обсеменением органов рыб кишечной и водной микрофлорой на фоне пониженной резистентности их организма. Наличие флексибактерий в органах свидетельствует о неблагополучии хозяйства по флексибактериозу.

В период с марта по июль 2003 года нами проведены 4-хкратные диагностические исследования по выявлению флексибактериоза в хозяйстве среди сеголеток форели, мальков и сеголеток сибирского осетра. В результате установлено две вспышки болезни: в марте среди сеголеток форели, содержащихся в садках и бассейнах инкубационного цеха; и в мае-июне среди мальков и сеголеток сибирского осетра, содержащихся в лотках инкубационного цеха. Заболевание проявлялось характерными клинико-анатомическими признаками, сопровождалось гибелью рыб, этиологический диагноз подтвержден микроскопическими и бактериологическими исследованиями патматериала от больных рыб.

При клиническом обследовании сеголеток форели на наружных покровах обнаружены у многих рыб серо-белые пятна, крупнопятнистые кровоизлияния, распад краевых зон плавников, подкожные пузыри и язвы разного размера (рис. 5).

При вскрытии у единичных рыб увеличено количество прозрачной жидкости в брюшной полости, печень пятнисто гиперемирована или бледная, кишечник пустой. Жабры у части рыб бледные, отечные с полосчатыми кровоизлияниями, без некрозов.

При микроскопическом исследовании соскобов с кожи и жабр у отдельных рыб обнаружены характерные длинные Грам-отрицательные палочковидные бактерии рода *Flexibacter*, которые хорошо окрашивались разбавленной синькой Лёффлера.

При бактериологическом исследовании из язв выделены бактерии рода *Flexibacter* в ассоциации с бактериями родов *Pseudomonas* и *Acinetobacter*.



Рис. 5. Сеголетки форели. Язва на боку и пятнистое кровоизлияние на брюшной стенке.

В группе мальков осетра у 2% рыб обнаружены признаки флексибактериоза, осложненного у единичных рыб сапролегниозом, отмечено повышение отхода. Клинически заболевание проявлялось кровоизлияниями у основания жучек, на нижней челюсти, пятнистыми побледнениями кожи в области спины («серое седло»), язвочками, некрозом хвостового стебля и поражением его сапролегниозом (рис. 6, 7).



Рис. 6. Мальки сибирского осетра. Побледнение кожи спины в виде «серого седла».



Рис. 7. Мальки сибирского осетра. Очаги некроза в области спины на хвостовом стебле.

Бактериологическими исследованиями установлен диагноз на флексибактериоз, осложненный носительством бактерий родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*.

2.2. Выделение микроорганизмов и чувствительность аэромонад, псевдомонад, флексибактерий к фторхинолонам

В ходе эпизоотологического обследования Клинского рыбхоза из нагульных прудов Дятловского, Яузского и Владимирского участков в летний период 2002 года были отобраны 2-х, 3-х и 4-х летки карпа с признаками хронического течения аэромоноза. Бактериологическими исследованиями из крови, почек, печени и селезенки была выделена в основном смешанная микрофлора, включающая роды и виды бактерий: *Aeromonas* – 19, *Pseudomonas* – 5, *Acinetobacter* – 17, *Alcaligenes* – 6, *Flavobacterium* – 3, *Flexibacter* – 3, *Plesiomonas* – 2, *E.coli* – 3, энтеробактерии – 6 изолятов. Выборочная проверка патогенности выделенных бактерий в биопробах на здоровых карпах показала, что среди аэромонад встречались как вирулентные (*A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii*), выделенные от больных

рыб с покраснением брюшка и язвами, так и авирулентные культуры, а псевдомонады были, как правило, авирулентны.

Для определения наиболее активного препарата в отношении аэромонад и псевдомонад было использовано 3 препарата из группы фторхинолонов: ципрофлоксацин, энрофлоксацин и норфлоксацин (табл. 2). Методом диффузии в агар изучали чувствительность к ним вирулентных аэромонад (изоляты – Кл-152, Кл-222) и авирулентных псевдомонад (Кл-3, Кл-39, Кл-241), выделенных из Клинского рыбхоза и авирулентной культуры аэромонад (ХК-5), выделенной от здоровых карпов из благополучного по инфекционным болезням пруда, расположенного на экспериментально-производственной базе ВНИИ ирригационного рыбоводства.

Из таблицы 2 видно, что в отношении аэромонад ципрофлоксацин и энрофлоксацин обладают примерно одинаковой активностью, которая выше, чем у норфлоксацина. При этом прослеживается взаимосвязь вирулентности

Таблица 2

Сравнительная активность фторхинолоновых препаратов в отношении аэромонад и псевдомонад

№ п/п	Изоляты	Зоны задержки роста, мм			Вирулентность
		Ципрофлоксацин	Энрофлоксацин	Норфлоксацин	
1.	Кл-222 (<i>A. hydrophila</i>)	0	11	0	+
2.	Кл-152 (<i>A. sobria</i>)	15	15,5	12	+
3.	ХК-5 (<i>A. schubertii</i>)	32	29	27	–
4.	Кл-3 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	18	11	0	–
5.	Кл-39 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	19	12	0	–
6.	Кл-241 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	13	10	0	–

и устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам. Вирулентная культура *A. hydrophila* (Кл-222) оказалась устойчивой практически ко всем 3-м препаратам, в то время как авирулентная - *A. schubertii* (ХК-5) показала к ним высокую чувствительность. Вирулентная культура *A. sobria* (Кл-152) занимала промежуточное положение и ее можно отнести к умеренно чувствительной к ципрофлоксацину и энрофлоксацину. В отношении псевдомонад наиболее активным оказался ципрофлоксацин, что свидетельствует о его преимуществе по сравнению с другими препаратами. Исходя из того, что в «Рыбхозе Клинский» установлена смешанная инфекция, вызванная аэромонадами в ассоциации с псевдомонадами и другими бактериями, для групповой лечебно-профилактической обработки было решено использовать Антибак 100 с кормом.

В последующие годы при изучении эпизоотической ситуации и постановке производственных опытов мы также определяли чувствительность аэромонад к ципрофлоксацину по сравнению с другими антибиотиками. Так, аэромонады, выделявшиеся от рыб из «Рыбхоза Клинский» были наиболее чувствительны к ципрофлоксацину (зона задержки роста 22 – 28 мм), несколько менее чувствительны к тетрациклину (20 – 24 мм) и левомицетину (19 – 27 мм), но устойчивы к гентамицину (12 – 14 мм) и стрептомицину (0 – 11 мм).

С целью определения минимальных подавляющих концентраций (МПК) и бактерицидных концентраций ципрофлоксацина методом серийных разведений нами было использовано по 5 изолятов аэромонад и псевдомонад, отобранных из разных хозяйств (табл. 3). Аэромонады были отобраны из 3-х хозяйств: из ООО «Русская рыбалка», выделенные от 2-х и 3-хлетков карпа вирулентные культуры *A. sobria* (Каш-1, Каш-5), из Клинского рыбхоза, выделенные от 3-хлетков карпа вирулентные культуры (Кл-222, Кл-152) и из Новомичуринского рыбхоза, выделенные от сеголетков сибирского осетра авирулентная культура *A. schubertii* (Ос-12). При этом все 4 культуры

аэромонад, выделенные от карпов, были вирулентны. Из псевдомонад использовали одну вирулентную культуру (БК), выделенную от карпа рыболовно-спортивного комплекса «Ромашково» и 4 авирулентные культуры, выделенные из Новомичуринского рыбхоза от сеголетков форели (Ф-4) и сеголетков сибирского осетра (Ос-3, Ос-41, Ос-42). Результаты испытаний представлены в таблице 3.

Таблица 3

Чувствительность бактерий родов
Aeromonas и *Pseudomonas* к ципрофлоксацину

№ п/п	Изоляты	МПК, мкг/мл	Бактерицидная концентрация, мкг/мл	Вирулентность
1.	Каш-1 (<i>A. sobria</i>)	0,02	0,08	+
2.	Каш-5 (<i>A. sobria</i>)	0,16	0,16	+
3.	Кл-222 (<i>A. hydrophila</i>)	0,16	1,25	+
4.	Кл-152 (<i>A. sobria</i>)	0,16	1,25	+
5.	Ос-12 (<i>A. schubertii</i>)	≤0,01	0,08	-
6.	БК (<i>Pseudomonas</i> sp.)	0,32	1,25	+
7.	Ф-4 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	0,08	0,63	-
8.	Ос-41 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	0,08	1,25	-
9.	Ос-42 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	0,08	1,25	-
10.	Ос-3 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	0,08	1,25	-

Диапазоны МПК ципрофлоксацина для аэромонад составили 0,01 – 0,16 мкг/мл, для псевдомонад – 0,08 – 0,32 мкг/мл, а бактерицидной концентрации для аэромонад – 0,08 – 1,25 мкг/мл, для псевдомонад – 0,63 – 1,25 мкг/мл. Более чувствительными к препарату оказались бактерии рода *Aeromonas*. При этом МПК вирулентных аэромонад и псевдомонад была заметно выше, чем у авирулентных. В целом все исследуемые культуры можно считать высокочувствительными по отношению ципрофлоксацину.

Учитывая то, что в рыбхозе «Новомичуринский» весной 2003 года были 2 вспышки флексибактериоза, вызванного флексибактериями в ассоциации с другой условно патогенной микрофлорой, возникла необходимость поиска средств, подавляющих флексибактерии и сопутствующие потенциально опасные аэромонады, псевдомонады и др. С этой целью нами были использованы результаты сотрудников ВНИИПРХ (Л.Н. Юхименко), проводивших по заказу НВЦ «Агроветзащита» исследования сравнительной чувствительности бактерий родов *Aeromonas* и *Flexibacter*, выделенных от рыб Новомичуринского рыбхоза, к различным химиотерапевтическим препаратам. Для этого были взяты 3 препарата:

1. Хлортетрациклин из группы антибиотиков, ранее применявшийся в хозяйстве;

2. Фуранас (Furanase, Aqua Furan, Вакторур direct) из группы фурановых препаратов фирмы Pahlmeier GmbH, действующим веществом которого является нифурпиринол;

3. Антибак из группы фторхинолонов, содержащий в качестве действующего вещества ципрофлоксацин.

Оценка активности препаратов проводилась методом диффузии в агар по величине зоны задержки роста бактерий. Результаты исследования представлены в таблице 4.

Из таблицы 4 видно, что концентрация Антибака, соответствующая минимальной зоне задержки роста флексибактерий, составила 0,17 мкг/мл, нифурпиринола – 5 мкг/мл, окситетрациклина – 200 мкг/мл. Минимальная зона задержки роста аэромонад обусловлена концентрациями: Антибака – 0,67 мкг/мл, нифурпиринола – 5 мкг/мл, окситетрациклина – 2 мкг/мл. Флексибактерии оказались более чувствительны к Антибаку и Фуранасу, тогда как по отношению к окситетрациклину они были более устойчивы, чем аэромонады.

В целом можно заключить, что по антимикробному действию на возбудителей флексибактериоза и аэромонадоза препарат Антибак показал

Таблица 4

**Сравнительная активность антибактериальных препаратов
в отношении аэромонад и флексибактерий
(по данным ВНИИПРХ)**

Антибак по д. в.			Фуранас (нифурпиринол)			Окситетрациклин		
Кон-центрация, мкг/мл	Зоны задержки роста, мм		Кон-центрация, мкг/мл	Зоны задержки роста, мм		Кон-центрация, мкг/мл	Зоны задержки роста, мм	
	Flexi-bacter	Aero-monas		Flexi-bacter	Aero-monas		Flexi-bacter	Aero-monas
100	50	36	500	50	26	2000	20	36
10	50	30	50	40	22	200	15	30
2	29	24	5	15	15	20	0	16
0,67	26	15	0,5	0	0	2	0	15
0,33	22	0						
0,17	15	0						

большую активность по сравнению с окситетрациклином и новым препаратом Фуранас. Исходя из этого, в данном хозяйстве для борьбы с флексибактериозом осетров и форели также было принято решение применить препарат Антибак.

2.3. Фармакокинетика ципрофлоксацина в организме карпов

Фармакокинетика ципрофлоксацина в организме рыб изучали при пероральном, перкутанном (через воду) и внутрибрюшинном введении препарата сеголеткам карпа. В опыты брали такое количество рыб, которое необходимо для определения препарата в динамике. Результаты опытов представлены в таблицах 5, 6, 7, 8, 9.

2.3.1. Пероральное введение

При однократном пероральном введении через зонд суспензии Антибака 100 двум группам рыб в дозах 20 и 100 мг/кг живой массы установили, что он достаточно быстро всасывается из кишечника и распределяется по всем органам. Максимального уровня накопления ципрофлоксацин достигал в организме карпов обеих групп через 2 – 5 часов (табл. 5). При этом в 1-й группе количество препарата в крови через 5 часов после его введения оказалось на уровне 13% от вводимой дозы (20 мг/кг), а во 2-й группе – 2,6% от дозы 100 мг/кг.

Таблица 5

Концентрация ципрофлоксацина в пробах исследуемого материала
при пероральном введении (мкг/г)

Материал	№ Группы	Дозы, мг/кг	Время после введения препарата											
			2 ч.	5 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	5 сут.	6 сут.	9 сут.	10 сут.	14 сут.	20 сут.	
Кровь	1.	20	1,45	2,6	-*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.	100	1,5	2,6	1,25	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
Печень, почки, селезенка	1.	20	2,6	2,55	1,05	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.	100	4,8	3,5	2,6	1,25	1,25	1,25	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Мышцы	1.	20	0,65	2,6	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.	100	0,5	2,3	1,25	1,25	1,25	1,25	0,8	0,8	-	-	-	-

*(-) – отсутствие препарата

Несмотря на разную биодоступность, полученные показатели в обеих группах превышали максимальную бактерицидную концентрацию в отношении аэромонад и псевдомонад (1,25 мкг/мл) в 2 и более раза. Однако у рыб 1-й группы через 24 часа в крови содержание препарата резко снизилось: он не обнаруживался вообще, а мышцах улавливали только его следы. Полностью препарат выводился из организма уже через 3 суток. Во 2-й группе рыб ципрофлоксацин задерживался дольше, особенно в паренхиматозных органах. Так, в крови он удерживался до 3-х суток, во внутренних органах его бактерицидная концентрация сохранялась не менее 5 суток, затем снижалась до бактериостатической и находилась на этом уровне 20 суток и более, а в мышцах препарат не обнаруживался на 10-е сутки с момента введения. В среднем период полувыведения ципрофлоксацина во 2-ой группе составил около 19 часов, а в 1-ой группе данный показатель точно установить не удалось, но он оказался гораздо ниже, чем во 2-ой группе, так как через 19 часов наблюдалось его полное отсутствие в крови.

2.3.2. Обработка в растворе

В опыте 1 при однократной обработке рыб в растворе Антибака 500 с концентрацией 25 мг/л в течение 48 часов определяли распределение препарата по органам и его выделение из организма рыб (табл. 6). Максимальный уровень содержания препарата наблюдался уже через 1 час в мышцах, кишечнике и жабрах (от 4,4 до 9,0 мкг/г). В паренхиматозных органах накопление его происходило несколько медленнее – через 3 часа обработки количество препарата достигло максимума (3,5 мкг/г). В мышцах после 5 часов выдерживания в растворе происходило его снижение в 7 раз, и через 1 сутки он не определялся совсем. В течение всей обработки в крови улавливались лишь следы препарата, а в кишечнике, жабрах и в паренхиматозных органах количество ципрофлоксацина удерживалось примерно на одном уровне.

Во 2-ом опыте рыб сначала обрабатывали в растворе с концентрацией препарата 25 мг/л в течение 5 часов, а затем перемещали их в чистую воду. В

Таблица 6

Концентрация ципрофлоксацина в пробах исследуемого материала во время обработки рыб в растворе Антибака 500 с концентрацией 25 мг/л (мкг/г)

Материал	1 ч.	3 ч.	5 ч.	24 ч.	48 ч.
Кровь	-	-	-	-	-
Печень, почки, селезенка	0,8	3,5	2,6	0,62	2,3
Мышцы	5	2,6	0,7	-	-
Кишечник	9	2,9	2,9	2,8	5
Жабры	4,4	4,6	4,4	4,6	4,25

мышцах и жабрах уже через 2 часа после пересадки рыб в чистую воду препарат не обнаруживался (табл. 7). Во внутренних органах препарат удерживался до 48 часов на уровне бактерицидных концентраций. При этом в просвете кишечника через 26 часов обнаруживалась белая творожистая масса, что указывает на участие кишечника в выведении препарата.

В 3-м опыте рыб обрабатывали 5 дней подряд в растворе с той же концентрацией при ежедневной экспозиции 5 часов. После каждой обработки рыб пересаживали в чистую воду. Распределение препарата в организме оказалось примерно таким же, как и при однократной обработке (табл. 8). Количественные отличия отмечались только в кишечнике, где препарата накапливалось в 2,6 раза больше, чем при однократной 5-ти часовой обработке. Срок полного выведения Антибака после пересадки рыб в чистую воду, независимо от кратности обработки, составил 3 суток (табл. 7, 8).

Таблица 7

Концентрация ципрофлоксацина в пробах исследуемого материала при обработке в растворе Антибака 500 (25 мг/л) и после пересадки рыб в чистую воду (мкг/г)

Материал	В растворе Антибака			В чистой воде после 5-часовой обработки в растворе Антибака				
	1 ч.	3 ч.	5 ч.	2 ч.	3 ч.	26 ч.	48 ч.	3 сут.
Кровь	-	-	-	-	-	-	-	-
Печень, почки, селезенка	0,8	3,5	2,6	3,8	3,2	1,6	1,25	-
Мышцы	5	2,6	0,7	-	-	-	-	-
Кишечник	9	2,9	2,9	2,9	2,9	0,5	0,5	-
Жабры	4,4	4,6	4,4	-	-	-	-	-

Таблица 8

Концентрация ципрофлоксацина в пробах исследуемого материала после 5-ти кратной обработке рыб в растворе Антибака 500 (25 мг/л) и после пересадки рыб в чистую воду (мкг/г)

	В растворе Антибака	В чистой воде		
	5 дней подряд по 5 ч.	3 ч.	24 ч.	72 ч.
Кровь	-	-	-	-
Печень, почки, селезенка	1,25	0,5	0,5	-
Мышцы	0,7	-	-	-
Кишечник	7,5	5	2,05	-

2.3.3. Внутривентриальное введение

При изучении фармакокинетики Антибака при внутривентриальном способе введения были испытаны 3 дозы: 2,5 мг/кг; 5 мг/кг; 10 мг/кг массы рыб (табл. 9). Антибак 500 растворяли в дистиллированной воде с таким расчетом, чтобы концентрация действующего вещества в 1 мл оказалась на уровне испытываемых доз.

Наибольшая концентрация препарата во всех исследуемых органах и тканях отмечалась в 3-х группах через 1 час после введения. При этом максимальное его содержание в абсолютном выражении обнаруживали в 3-й группе, которой вводили дозу 10 мг/кг. Биодоступность в данном случае составила 68%, количество препарата от введенной дозы в гомогенате из печени, почек и селезенки – 75%, в кишечнике – 68%, в мышцах – 6,2%.

Во 2-й группе биодоступность составила 136%, то есть препарат в течение первого часа активно накапливался в крови. В паренхиматозных органах и кишечнике его содержание было одинаково и составило 100% от введенной дозы.

В 1-й группе биодоступность оказалась на уровне 100%, а в паренхиматозных органах и в кишечнике количество препарата превышало введенную дозу в 1,8 и в 1,5 раза соответственно.

Через 4 часа содержание ципрофлоксацина в крови в 3-й группе снизилось почти в 2 раза, а во 2-ой и 1-ой группах – в 3 и 4,2 раза соответственно. Следовательно, период полувыведения Антибака при дозе 10 мг/кг составил 3 часа, а при дозах 2,5 и 5 мг/кг – менее 3-х часов.

Через 24 часа в 1-й и 2-й группах препарат обнаруживался только во внутренних органах, а в 3-й группе сохранялся в крови и внутренних органах на бактерицидном уровне (1,3 – 2,9 мкг/г). В мышцах он определялся только в 3-й группе в количестве 0,62 – 0,7 мкг/г и удалялся через 48 часов.

Срок полного выведения Антибака в 3-й группе составил 5 суток, в 1-й и 2-й группах – 7 суток.

Таблица 9

Концентрация ципрофлоксацина в пробах исследуемого материала
при внутрибрюшинном введении (мкг/г/мл)

№ группы, доза	Материал	Время после введения						
		1 ч.	4ч.	24 ч.	48 ч.	3 сут.	5 сут.	7 сут.
1. 2,5 мг/кг	Кровь	2,6	0,62	-	-	-	-	-
	Печень, почки, селезенка	4,5	2,3	0,8	0,8	-	-	-
	Мышцы	-	-	-	-	-	-	-
	Кишечник	3,8	0,62	0,62	0,62	0,62	0,25	-
2. 5 мг/кг	Кровь	6,8	2,3	-	-	-	-	-
	Печень, почки, селезенка	5	2,3	0,8	0,8	0,8	0,7	-
	Мышцы	-	-	-	-	-	-	-
	Кишечник	5	1,3	0,62	0,62	-	-	-
3. 10 мг/кг	Кровь	6,8	3,5	2,3	-	-	-	-
	Печень, почки, селезенка	7,5	2,3	1,3	0,62	-	-	-
	Мышцы	0,62	0,7	0,7	-	-	-	-
	Кишечник	6,8	2,9	2,9	0,55	0,5	-	-

Очевидно, что увеличение дозы Антибака приводило к увеличению концентрации ципрофлоксацина в крови и внутренних органах в первые часы после введения. В течение всего периода наблюдения препарат во всех группах в большей степени задерживался в паренхиматозных органах и в кишечнике. Несмотря на то, что в крови рыб 3-й группы он задерживался в более высокой концентрации дольше, чем в других группах, из почек, печени, селезенки выводился почти в те же сроки, что и при введении меньших доз, и даже несколько раньше (рис. 8). В кишечнике у рыб, получивших наименьшую дозу (2,5 мг/кг), ципрофлоксацин сохранялся более длительное время (рис. 9).

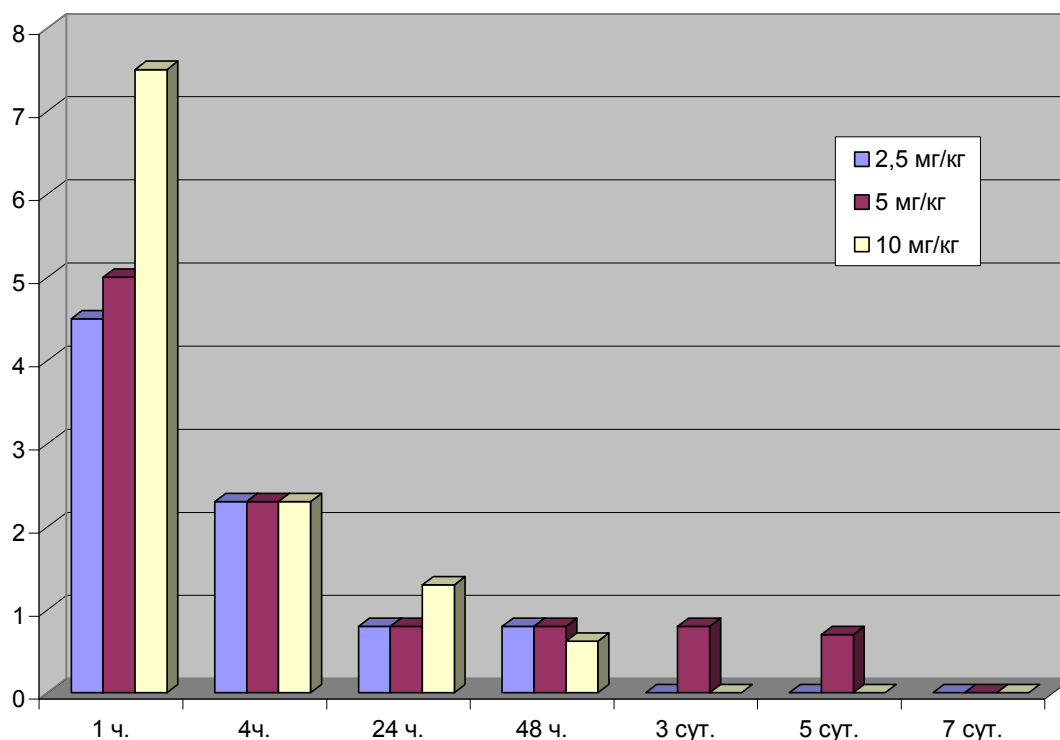


Рис. 8. Концентрация ципрофлоксацина в паренхиматозных органах при внутрибрюшинном введении

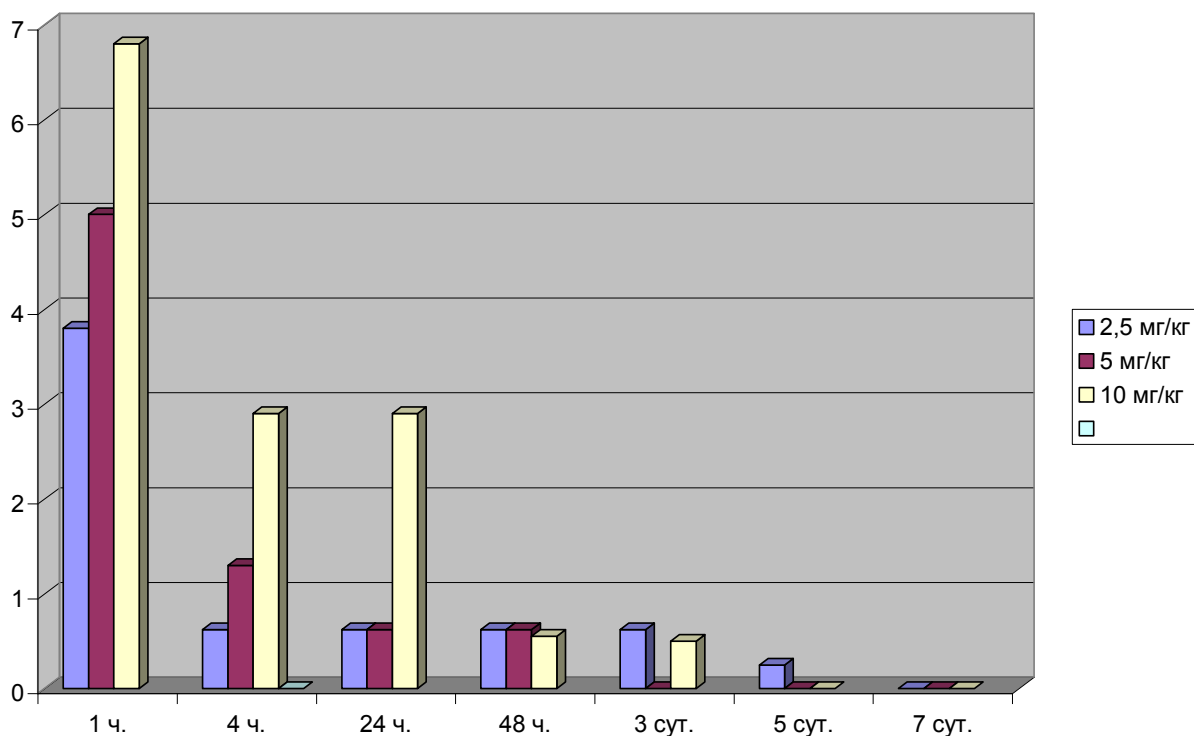


Рис. 9. Концентрация ципрофлоксацина в кишечнике при внутрибрюшинном введении

Таким образом, при внутрибрюшинном применении по сравнению с другими способами введения Антибак быстрее проникал внутрь организма, достигая там концентраций, в несколько раз превосходящих бактерицидные, и обладал наибольшей биодоступностью.

Результаты данного опыта указывают на ту же зависимость, которая прослеживается и при пероральном введении – с повышением дозы препарата увеличиваются его содержание в организме и период полувыведения, а биодоступность, наоборот, снижается.

2.4. Лечебная эффективность Антибака

Для определения терапевтической эффективности Антибака необходимо было в лабораторных условиях вызвать аэромоноз и псевдомоноз карпов, а затем проводить обработку рыб препаратом различными способами. Однако искусственное воспроизведение

симптомокомплекса (начальной стадии и язвенной формы), развивающегося при этих заболеваниях в условиях рыбоводных хозяйств, оказалось затруднительным. Заражение рыб вирулентными культурами аэромонад и псевдомонад в дозах ЛД₅₀ и ЛД₁₀₀ вызывало, как правило, клиническую картину, характерную для острого течения инфекции (асцит, покраснение и выпячивание анального кольца, иногда покраснение и ерошение чешуи в месте введения бактериальной культуры). В итоге часть опытных рыб погибала из-за быстрого развития сепсиса еще до начала лечения, а в другой части динамика развития болезни и выздоровления не отличалась от контроля, и вылечить зараженных больных рыб не удавалось.

Подтверждением вышеизложенного явился опыт, при котором вначале заразили рыб вирулентной *A. sobria* в дозе 200 млн. м. т. Через 1 сутки из них отобрали рыб с выраженными клиническими признаками болезни: выпячиванием и покраснением анального кольца, покраснением и припухлостью в месте введения культуры. Их разделили на 4 группы и в тот же день начали вводить Антибак разными способами: в 1-й группе рыб кормили 1 раз в день лечебным кормом с Антибаком 100 5 дней подряд в дозе 0,5 г/кг массы рыб; во 2-ой группе рыб обрабатывали в растворе Антибака 500 с концентрацией 25 мг/л 3 дня подряд по 3 часа; в 3-ей группе вводили Антибак 500 внутривентриально в дозе 10 мг/кг 2 дня подряд; 4-ая группа была контрольной, в которой препарат рыбам не вводили.

В ходе опыта развитие симптомов, гибель и выздоровление во всех 4-х группах происходили примерно с одинаковой интенсивностью. Через 21 сутки после заражения в 1-й, 2-й и 4-й группах в живых осталось по 40% рыб и соотношение здоровых и больных рыб составило 3 : 1, а в 3-й группе выжило 50% и это же соотношение составило 3 : 2. Следовательно, в опытных и контрольной группах результаты оказались сходными. Аналогичный результат был получен при использовании вирулентной культуры *Pseudomonas* sp.

Таким образом, у сеголеток карпа при экспериментальном воспроизведении аэромоноза и псевдомоноза добиться лечебного эффекта в данных условиях оказалось невозможным.

В связи с этим было решено сократить промежуток времени от момента заражения до обработки, то есть препарат вводить до начала развития клинических признаков болезни. С этой целью поставили опыт, в котором после заражения *Pseudomonas* sp. через 5 часов 3-м группам рыб внутрибрюшинно ввели Антибак 500 в дозах по: 2,5 мг/кг; 5 мг/кг; 10 мг/кг. 4-я группа была контрольной, где препарат не вводили. Наблюдение вели 6 суток. Результаты опыта представлены в таблице 10.

Таблица 10

Заболееваемость и гибель сеголеток карпа
при обработке Антибаком 500 после заражения *Pseudomonas* sp. (n = 10)

№ группы	Дозы, мг/кг,	Клиническое состояние	Время после инъекции Антибака			
			1 сут.	2 сут.	3 сут.	6 сут.
1.	2,5	Здоровые	100%	0%	-	-
		Больные	0%	0%	-	-
		Погибшие	0%	100%	-	-
2.	5	Здоровые	100%	20%	20%	40%
		Больные	0%	20%	20%	0%
		Погибшие	0%	60%	-	-
3.	10	Здоровые	100%	50%	100%	-
		Больные	0%	50%	0%	-
		Погибшие	0%	0%	0%	-
4.	Контроль (n = 12)	Здоровые	100%	16,7%	0%	-
		Больные	0%	0%	16,7%	0%
		Погибшие	0%	83,3%	83,3%	100%

В таблице прослеживается прямая зависимость количества погибших рыб от величины дозы препарата. При введении наименьшей дозы (2,5 мг/кг) гибель всех рыб произошла уже через 2 суток. Максимальная доза (10 мг/кг) обеспечила 100%-ную выживаемость и выздоровление всех заболевших рыб через 3 суток после введения препарата. А при использовании дозы 5 мг/кг количество погибших и выздоровевших рыб заняло промежуточное положение.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что при применении в период острого течения болезни (с наличием клинических признаков) Антибак не оказывал лечебного эффекта. А при введении препарата до появления клинических признаков он оказывал лечебно-профилактический эффект.

2.5. Профилактическая эффективность Антибака

Профилактическую эффективность Антибака определяли на сеголетках карпа при пероральном (*Опыт I, варианты 1, 2, 3*), внутрибрюшинном (*Опыт II*) и перкутанном способах введения (*Опыт III*).

2.5.1. Пероральное введение Антибака 100

Опыт I по изучению профилактической эффективности Антибака при пероральном введении ставили в 3-х вариантах: *вариант 1* - при введении препарата через зонд, *вариант 2* – путем скармливания препарата в составе лечебного корма и *вариант 3* – для изучения сохранения профилактической эффективности после перорального введения препарата вышеуказанными способами.

Опыт I. Вариант 1. При однократном пероральном введении Антибака 100 с помощью зонда были использованы дозы препарата 0,2 г/кг; 0,5 г/кг; 1 г/кг (по д. в. соответственно - 20 мг/кг; 50 мг/кг; 100 мг/кг) массы рыб. Однократное заражение вирулентной культурой *A. sobria* проводили через 5 часов после введения препарата в вышеуказанных дозах, когда концентрация ципрофлоксацина в организме достигала максимального уровня. Результаты представлены в таблице 11.

Как видно из таблицы 11 через 1 - 3 суток в контрольной и всех опытных группах рыб появились симптомы болезни, которые проявлялись с различной интенсивностью в зависимости от дозы препарата. В последующем в опытных группах наблюдалось частичное излечение рыб.

Таблица 11

Заболееваемость и гибель сеголеток карпа при заражении
A. sobria через 5 часов после введения Антибака 100 (n = 10)

№ группы	Дозы, мг/кг д. в.	Клиническое проявление	Время после заражения		
			1 сут.	3 сут.	9 сут.
1.	20	Здоровые	0%	0%	20%
		Больные	100%	80%	60%
		Погибшие	0%	20%	0%
2.	50	Здоровые	20%	0%	40%
		Больные	80%	100%	60%
		Погибшие	0%	0%	0%
3.	100	Здоровые	60%	60%	60%
		Больные	40%	40%	40%
		Погибшие	0%	0%	0%
4.	Контроль (n = 12)	Здоровые	16,7%	16,7%	16,7%
		Больные	83,3%	33,3%	0%
		Погибшие	0%	50%	83,3%

Излечение больных рыб происходило примерно с одинаковой скоростью, но у рыб, получивших наименьшую дозу Антибака (20 мг/кг), клинически признаки (асцит, покраснение и выпячивание анального кольца) проявлялись раньше, а также через 3 суток отмечалась гибель части рыб (20%).

К 9-му дню наблюдений в 1-й и 2-й группах произошло полное выздоровление 20% и 40% рыб соответственно. У рыб всех опытных групп,

отнесенных в категорию «больных», наблюдавшиеся ранее выраженные симптомы (асцит, покраснение и выпячивание анального кольца) исчезли, а отмечалось только слегка увеличенное брюшко. В то же время в контрольной группе все заболевшие рыбы погибли, и гибель составила 83,3 %.

Наибольший лечебно-профилактический эффект получен в 3-й опытной группе при использовании максимальной дозы Антибака 100 1 г/кг (100 мг/кг по д. в.). При этом начальные и слабо выраженные симптомы аэромоноза (покраснения и др.) отмечались только у 40% рыб, остальные рыбы не заболели вообще.

С целью определения профилактической эффективности Антибака 100 при псевдомонозе была использована вирулентная культура *Pseudomonas* sp., которой заражали сеголеток карпа через 6 суток после введения опытной группе Антибака 100 тем же способом в дозе 20 мг/кг массы рыб. Результаты представлены в таблице 12.

Таблица 12

Заболееваемость и гибель сеголеток карпа при заражении
Pseudomonas sp. после введения Антибака 100 (n = 12)

Группы рыб	Клиническое состояние	Время после заражения			
		2 сут.	3 сут.	4 сут.	7 сут.
Опытная (20 мг/кг) д. в.	Здоровые	83,3%	50%	50%	50%
	Больные	16,7%	0%	0%	0%
	Погибшие	0%	50%	0%	0%
Контрольная	Здоровые	66,7%	50%	66,7%	50%
	Больные	0%	16,7%	0%	0%
	Погибшие	33,3%	0%	0%	50%

Из таблицы 12 видно, что гибель среди контрольных рыб, которым препарат не вводили, наступала уже через 2 суток, то есть несколько раньше,

чем среди опытных. Однако через 7 суток соотношение здоровых и погибших рыб в обеих группах сравнялось.

Таким образом, профилактический эффект через 6 суток после применения Антибака 100 отсутствовал. Это является подтверждением результатов опыта по изучению фармакокинетики, в ходе которого было установлено, что препарат, вводимый в дозе 20 мг/кг массы рыб, полностью выводится через 3 суток.

Опыт 1. Вариант 2. Опытной группе скармливали Антибак 100 в составе лечебного комбикорма 5 дней подряд в суточной дозе 0,5 г/кг массы рыб или 50 мг/кг по д. в. Контрольную группу кормили обычным комбикормом без препарата. Затем параллельно провели несколько заражений опытных и контрольных рыб вирулентной культурой Каш-5 (*Aeromonas sobria*) в дозе 200 млн. м. т. Результаты представлены в таблице 13. Из таблицы видно, что при заражении рыб через 1 сутки после последнего кормления лечебным кормом в опытной группе развития клинических признаков болезни не отмечалось. В контрольной группе у всех рыб наблюдалось покраснение брюшка, гиперемия и выпячивание анального

Таблица 13

Результаты заражений сеголетков карпа *A. sobria*
после кормления лечебным кормом с Антибаком 100 (n = 10)

Группы	Заражения после кормления лечебным кормом			
	через 1 сутки	через 9 сут.	через 23 сут.	через 45 сут.
<u>1. Опытные</u>				
Больные	0%	80%	50%	50%
Погибшие	0%	0%	0%	0%
<u>2. Контрольн.</u>				
Больные	100%	75%	100%	100%
Погибшие	83,3%	25%	75%	50%

кольца, у некоторых рыб – ухудшение аппетита, отсутствие реакции на внешние раздражители. Количество погибших рыб в данной группе в течение последующих 3-х суток составило 83,3%. При этом были выражены такие патологоанатомические изменения, как застойная гиперемия печени, серозный перитонит, скопление экссудата в брюшной полости (рис. 10).



Рис. 10. Патологоанатомические изменения у контрольного карпа при экспериментальном заражении *A. sobria*.

На третьи сутки после 1-го заражения от опытных и контрольных рыб были сделаны бактериологические посевы на агар Эндо и мазки крови для выведения лейкоцитарной формулы. При этом у опытных рыб только в печени и селезенке отмечена обсемененность аэромонадами, в частности, в посевах из печени наблюдался рост отдельных однородных колоний, из селезенки – их сплошной рост, а от контрольных рыб сплошной рост аэромонад был в посевах из крови и всех паренхиматозных органов.

В ходе изучения лейкограммы (табл. 14) у подопытных рыб по сравнению со здоровыми отмечалось достоверное увеличение процента

миелоцитов и палочкоядерных и уменьшение сегментоядерных нейтрофилов. У контрольных рыб, зараженных *A. sobria*, наблюдался моноцитоз, а также нейтрофилия за счет увеличения относительного количества миелоцитов. В итоге все рыбы в опытной группе после первого заражения остались живы, при этом симптомы болезни не развивались.

Таблица 14

Лейкограмма сеголеток карпа после 5-тикратного кормления лечебным кормом с Антибаком 100 (n = 10)

№	Группы	Нейтрофилы, %			Моноциты, %	Лимфоциты, %
		М	П	С		
1.	Опытные	1,5±0,32	0,5±0,07	0,1±0,02	0,5±0,11*	97,4±6,84*
2.	Контрольные (зараженные <i>A. sobria</i>)	6,5±0,77	0,25±0,08*	0,25±0,03*	1,75±0,26	91,25±5,43
3.	Контрольные (здоровые)	0,73±0,13	0,21±0,04	0,48±0,09	0,68±0,06	97,9±2,37

* различия с контролем не достоверны ($p > 0,05$).

Через 9 суток после последнего кормления лечебным кормом провели второе заражение опытных рыб этой же культурой. Через 1 сутки после этого у 80% рыб опытной группы отмечалось очаговое ерошение чешуи и у некоторых – покраснения в местах инъекций. Аппетит у всех рыб был сохранен. В контрольной группе клинические признаки в виде асцита, ерошения чешуи и небольшого покраснения кожи в месте введения культуры наблюдались у 75% зараженных рыб. При этом аппетит у них практически отсутствовал.

В последующие 9 суток наблюдения все подопытные рыбы остались живы, ранее отмеченные симптомы исчезли, то есть произошло выздоровление. В контрольной группе гибель составила 25%, а у выживших рыб в местах введения культуры сохранились очаговые покраснения кожи.

На 14 сутки после 2-го заражения сделали бактериологические посевы от опытных и контрольных рыб. Колонии *A. sobria* от опытных рыб были выделены из печени и селезенки, а от контрольных – из печени, селезенки и почек примерно в том же количестве.

Через 23 суток после последнего кормления лечебным кормом провели 3-е заражение опытных рыб. В течение последующих 6 суток наблюдений в опытной группе гибели рыб не было, а признаки болезни регистрировались у 50% зараженных рыб в виде очагового ерошения чешуи и незначительного покраснения в месте инъекции. В контрольной группе заболевание проявилось у всех рыб снижением аппетита, очаговыми покраснениями на брюшке, а также покраснением и выпячиванием анального кольца. Гибель рыб продолжалась со 2-го по 6-й день и составила 75%.

4-е заражение провели через 45 суток после последнего кормления лечебным комбикормом. Все опытные рыбы остались живы. Несмотря на небольшое проявление болезни у половины рыб, аппетит у них был сохранен. В контроле клинические признаки развились у всех рыб в течение 2 – 3 суток и проявлялись двухсторонним ерошением чешуи, покраснением, выпячиванием анального кольца, отказом от корма. В итоге погибло 50% рыб.

Опыт I. Вариант 3. по определению максимального срока сохранения профилактического эффекта при пероральном введении Антибака 100. С этой целью 3-м группам рыб Антибак 100 вводили: 1-й группе – через зонд однократно в дозе 1 г/кг (100 мг/кг по д. в.); 2-й группе – через зонд в той же дозе 5-тикратно 5 дней подряд; 3-й группе – путем вольного скармливания лечебного корма ежедневно в течение 5 дней также в дозе 1 г/кг (100 мг/кг по д. в.). 4-я группа была контрольной, в которой рыбам препарат не вводили. Через 26 суток опытных и контрольных рыб заразили вирулентной культурой *A. sobria*. Через 2 суток после заражения в 1, 3 и 4 группах наступила 100%-ная гибель рыб с ярко выраженными клиническими признаками. Во 2-й группе гибель всех рыб произошла несколько позднее – через 3 – 4 суток.

В целом, результаты опытов показали, что спустя 26 суток после обработок препарат полностью выделился из организма рыб и поэтому антибактериального действия не оказал.

2.5.2. Внутривентральное введение Антибака 500

Опыт II. Лечебно-профилактическую эффективность Антибака 500 при однократном внутривентральном введении определяли с использованием 2-х вирулентных культур *A. sobria* и *Pseudomonas* sp., которыми заражали сеголеток карпа после обработки рыб препаратом в разные сроки. Для этого было сформировано 3 опытные группы, которым препарат вводили в дозах по д. в.: 2,5 мг/кг; 5 мг/кг; 10 мг/кг массы рыб.

В первой серии опытов применяли культуру *Pseudomonas* sp., которой опытных рыб заражали в дозе 100 млн. м. т. 4 раза через 1 час, на 7, 13 и 20-е сутки после внутривентрального введения Антибака. Результаты представлены в таблице 15.

Через 5 суток после 1-го заражения в 1-й группе гибели рыб не отмечено, во 2-й и 3-й группах она составила по 20%, что на 60% ниже, чем в контроле. У всех выживших подопытных рыб наблюдавшиеся в первые 2 – 3 суток после заражения клинические признаки болезни (асцит, покраснение и выпячивание анального кольца) исчезли. В контрольной группе погибло 80% рыб с теми же симптомами, а у 20% выживших рыб такие же клинические признаки сохранялись в течение 5 суток.

На 7, 13 и 20-е сутки после первого заражения провели повторные подзаражения выживших подопытных рыб той же культурой. В итоге среднее количество погибших рыб опытных групп в ходе 4-х заражений в расчете на 1 заражение различалось незначительно и оказалось ниже контроля в среднем на 60,4% (табл. 16). Тем не менее, минимальная гибель рыб отмечена при введении дозы 5 мг/кг (11,25%), максимальная - при дозе 10 мг/кг (19,5%), а промежуточное положение заняла доза 2,5 мг/кг (16,7%).

Таблица 15

Заболееваемость и гибель сеголеток карпа при заражениях

Pseudomonas sp. после введения Антибака 500 (n = 10)

№ группы	Доза, мг/кг	Клиническое состояние	Время после заражения					
			после 1-го заражения		после 2-го заражения	после 3-го заражения	после 4-го заражения	
			2 сут.	5 сут.	6 сут.	7 сут.	2 сут.	7 сут.
1.	2,5	Здоровые	50%	100%	16,6%	100%	50%	100%
		Больные	50%	0%	16,6%	0%	50%	0%
		Погибшие	0%	0%	66,8%	0%	0%	0%
2.	5	Здоровые	0%	80%	100%	75%	50%	50%
		Больные	100%	0%	0%	25%	50%	25%
		Погибшие	0%	20%	0%	0%	0%	25%
3.	10	Здоровые	80%	80%	75%	66,8%	66,8%	66,8%
		Больные	20%	0%	0%	0%	0%	0%
		Погибшие	0%	20%	25%	33,2%	33,2%	0%
4.	Контроль	Здоровые	0%	0%	0%	50%	25%	25%
		Больные	20%	20%	0%	0%	0%	0%
		Погибшие	80%	0%	100%	50%	75%	0%

Таблица 16

Гибель сеголеток карпа при заражениях Pseudomonas sp.

после введения Антибака 500

№ группы	Доза, мг/кг	Заражения				Средние значения
		1-ое	2-ое	3-е	4-е	
1.	2,5	0%	66,8%	0%	0%	16,7%
2.	5	20%	0%	0%	25%	11,25%
3.	10	20%	25%	33,2%	0%	19,5%
4.	Контроль	80%	100%	50%	75%	76,2%

Изучение картины крови рыб из опытных групп через 9 суток после 4-го заражения показало следующее (табл. 17).

Таблица 17

Гематологические показатели опытных карпов
после 4-го заражения *Pseudomonas* sp. (n = 8)

Гематологические показатели		Дозы			
		2,5 мг/кг	5 мг/кг	10 мг/кг	Контроль
Гемоглобин, г%		7±1,12*	12,8±1,73	8±0,95*	8,67±0,86
Эритроциты, млн./мкл		1,22±0,045*	2,19±0,137	1,52±0,211*	0,85±0,12
Лейкоциты, тыс./мкл		22±1,72	22±2,05	28±3,72	12±1,52
Нейтрофилы, %	Миелоциты	1±0,05*	7,5±0,92	1,5±0,03	0,75±0,113
	Палочкоядерные	0	0,5±0,02*	0	0,25±0,092
	Сегментоядерные	0	0	0	0,38±0,052
Моноциты, %		2,5±0,32	1±0,06*	0,5±0,06*	0,62±0,118
Лимфоциты, %		96,5±3,73*	91±6,52	98±1,32*	98±2,74

* различия с контролем не достоверны ($p > 0,05$).

Наибольшие изменения отмечены во 2-ой группе (5 мг/кг), где количество эритроцитов было увеличено в 2,57 раза (2,19 млн/мкл против 0,85 млн/мкл в контроле), нейтрофилов за счет незрелых форм – в 5,8 раза, содержание гемоглобина также было повышено по сравнению с контролем в 1,48 раза. В 3-й группе наблюдалось небольшое возрастание числа незрелых нейтрофилов, а в 1-й группе – моноцитов. Количество лейкоцитов во всех 3-х группах было увеличено в 1,83 – 2,33 раза.

При осмотре брюшной полости у рыб всех опытных групп обнаружены спайки между петлями кишечника и печенью. Гистологическими

исследованиями патологических изменений в паренхиматозных органах не выявлено.

Аналогичный опыт был поставлен с однократным использованием вирулентной культуры *A. sobria*, которой заражали рыб однократно через 1 час после введения Антибака 500. Результаты опыта представлены в таблице 18.

Таблица 18

**Заболееваемость и гибель сеголеток карпа
при заражении *A. sobria* после введения Антибака 500 (n = 10)**

№	Доза, мг/кг д. в.	Клиническое состояние	Время после заражения					
			1 сут.	2 сут.	3 сут.	4 сут.	6 сут.	8 сут.
1.	2,5	Здоровые	60%	20%	60%	80%	100%	100%
		Больные	40%	80%	40%	20%	0%	0%
		Погибшие	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2.	5 (n = 12)	Здоровые	83,3%	0%	83,3%	83,3%	83,3%	100%
		Больные	16,7%	100%	16,7%	16,7%	16,7%	0%
		Погибшие	0%	0%	0%	0%	0%	0%
3.	10	Здоровые	100%	60%	80%	80%	100%	100%
		Больные	0%	40%	20%	20%	0%	0%
		Погибшие	0%	0%	0%	0%	0%	0%
4.	Контроль (n = 12)	Здоровые	16,7%	16,7%	16,7%	16,7%	16,7%	16,7%
		Больные	83,3%	83,3%	33,3%	16,7%	0%	0%
		Погибшие	0%	0%	50%	66,6%	83,3%	0%

Через 1 сутки после заражения прослеживалась прямая зависимость количества больных рыб от дозы препарата. Так в 1-й группе количество заболевших рыб со слабо выраженными клиническими признаками (небольшой асцит, слабое покраснение анального кольца) составило 40%, а в 3-й группе, где доза была наибольшей, все рыбы оставались здоровыми. Максимального развития в 1-й группе болезнь достигла через 2 – 3 суток, когда отмечалось сильное вздутие брюшка, выпячивание и покраснение анального кольца (рис. 11).



Рис. 11. Клинические признаки (брюшная водянка) экспериментального аэромоноза (вверху). Внизу здоровый карп.

Во 2-й и 3-й группах несмотря на высокую заболеваемость, симптомы были менее выражены. Затем во всех опытных группах происходило постепенное выздоровление. У рыб с асцитной формой проявления болезни через 4 – 6 суток брюшко становилось мягким, немного отвислым, покраснение и выпячивание анального кольца исчезло. Через 8 суток все опытные рыбы были клинически здоровы, тогда как в контроле спустя 3 – 6 суток с момента заражения наблюдали гибель всех заболевших рыб (83,3%).

2.5.3. Обработка в растворе Антибака 500

Опыт III. Профилактическую обработку сеголеток карпа проводили в растворе Антибака 500 с концентрацией 25 мг/л по д. в. в течение 5 часов однократно. После этого одну группу заразили вирулентной *A. sobria*, а другую – *Pseudomonas* sp. в дозе 200 млн. м. т. (табл. 19).

При использовании *A. sobria* через 1 сутки после заражения у всех опытных и контрольных рыб проявились одинаковые симптомы (небольшое выпячивание анального кольца, плохой аппетит). Через 2 суток в контроле

Таблица 19

Заболееваемость и гибель сеголеток карпа
при заражении *A. sobria* и *Pseudomonas* sp. после обработки в растворе
Антибака 500 (n = 16)

Культуры		Клиническое состояние	Время после заражения					
			1 сут.	2 сут.	3 сут.	4 сут.	6 сут.	8 сут.
<i>A. sobria</i>	Опыт	Здоровые	0%	0%	0%	0%	-	-
		Больные	100%	50%	12,5%	0%	-	-
		Погибшие	0%	50%	87,5%	100%	-	-
	Контроль	Здоровые	0%	0%	0%	-	-	-
		Больные	100%	12,5%	0%	-	-	-
		Погибшие	0%	87,5%	100%	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> sp.	Опыт	Здоровые	37,5%	37,5%	37,5%	12,5%	12,5%	12,5%
		Больные	62,5%	0%	0%	25%	0%	0%
		Погибшие	0%	62,5%	62,5%	62,5%	87,5%	0%
	Контроль (n = 10)	Здоровые	0%	0%	0%	-	-	-
		Больные	100%	25%	0%	-	-	-
		Погибшие	0%	75%	100%	-	-	-

погибло на 37,5% рыб больше, а 100%-ную гибель в этой группе зафиксировали на 1 сутки раньше, чем в опытной. Несмотря на то, что выраженного лечебно-профилактического эффекта Антибака не наблюдалось, гибель всех рыб в опытной группе наступала несколько позднее.

При использовании *Pseudomonas* sp. профилактическое действие Антибака 500 оказалось более выражено. В контрольной группе через 2 суток после заражения погибших рыб было на 12,5% больше, чем в опытной, и выжившие рыбы имели явные клинические признаки (асцит, покраснение брюшной стенки). А через 3 суток все контрольные рыбы погибли, тогда, как в опытной группе к концу опыта осталась часть (12,5%) здоровых рыб.

2.6. Определение токсичности Антибака

Токсичность препарата определяли при внутрибрюшинном и пероральном введении чистого цiproфлоксацина сеголеткам карпа и при обработке мальков сибирского осетра в растворах Антибака 250.

Результаты опытов оценивали по летальности рыб, клиническому проявлению интоксикации, а также по результатам гематологических и патологоморфологических исследований.

2.6.1. Внутрибрюшинное введение цiproфлоксацина

Для определения острой токсичности при однократном внутрибрюшинном введении был использован чистый цiproфлоксацин в дозах: 200; 500; 1000 и 1500 мг д. в./кг массы рыб (соответственно группы 1, 2, 3, 4, 5).

При введении доз препарата 200 и 500 мг/кг клинические признаки не отмечались, гибели рыб не было. Признаки токсикоза появились при дозах 1000 – 1500 мг/кг и проявлялись нарушением координации движения рыб (плавание на боку, переворачивание, потеря равновесия) и судорожными подергиваниями хвостового стебля. Гибель наступала через 2 – 24 часа. При вскрытии у погибших рыб (дозы 1000 – 1500 мг/кг) обнаруживали на серозных оболочках внутренних органов зернистый налет серо-белого цвета, застойную гиперемию в печени и почках, переполнение кровянистой пенистой жидкостью и истончение стенки кишечника (рис. 12).

Для гематологических и гистологических исследований из 1-й и 2-й групп отбирали рыб без признаков токсикоза через 7 – 8 суток после введения препарата, из 3-й группы отбирали рыб с признаками отравления через 4, 24 часа и 6 суток, а из 4-й группы – только через 4 часа после введения препарата. Результаты исследования картины крови представлены в таблице 20.



Рис. 12. Зернистый налет на серозных оболочках, застойная гиперемия в печени (доза 1500 мг/кг).

Таблица 20

Картина крови сеголеток карпа при внутрибрюшинном введении ципрофлоксацина (n = 9)

Гематологические показатели	Группы рыб, дозы Антибака, мг/кг по д. в.					
	1. 200	2. 500	3. 1000	4. 1500	5. Контроль	
Гемоглобин, г%	7,72±1,183*	8,64±0,742*	4,81±0,537	3,58±0,391	8,72±0,842	
Эритроциты, млн./мкл	1,08±0,184*	1,11±0,241*	0,521±0,053	0,48±0,019	1,04±0,112	
Лейкоциты, тыс./мкл	8,0±0,55	21,2±3,27	28,5±2,17	30,0±6,52	14,0±2,35	
Нейтрофилы, %	Миелоциты	2,7±0,32	2,4±0,07	5,2±0,74	5,2±0,63	0,8±0,06
	Палочко-ядерные	1,2±0,10	0,2±0,01*	2,3±0,34	2,0±0,03	0,2±0,03
	Сегментоядерные	0,9±0,03	0,6±0,09*	1,1±0,08	0,5±0,08*	0,18±0,073
Моноциты, %	0	0,6±0,07*	3,7±0,45	1,5±0,21	0,52±0,08	
Лимфоциты, %	95,2±4,99*	96,2±3,39*	87,7±5,17	90,8±2,98	98,3±6,49	

* различия с контролем не достоверны ($p > 0,05$).

Из таблицы 20 видно, что у рыб, которым вводили 1000 и 1500 мг/кг ципрофлоксацина, была резко выражена анемия, нейтрофилия, лейкоцитоз,

умеренная лимфоцитопения. Количество эритроцитов и уровень гемоглобина снижены примерно в 2 раза. Количество лейкоцитов находилось в прямой зависимости от дозы препарата. Нейтрофилия проявлялась увеличением общего числа нейтрофилов за счет миелоцитов (в 5,6 - 6,5 раза), палочкоядерных (в 10 – 11,3 раза). При введении доз 200 и 500 мг/кг отмечено только увеличение общего количества нейтрофилов (в 2,3 - 3,5 раза), а остальные гематологические показатели отличались от нормы незначительно.

Патологических изменений клеток крови в 1-й группе (200 мг/кг) не выявлено. Во 2-й группе (500 мг/кг) отмечено появление набухших эритроцитов с извилистой оболочкой, а также полихроматофильных (незрелых) деформированных эритроцитов. Наиболее выраженные изменения обнаружены у рыб 3-й и 4-й групп (1000 – 1500 мг/кг): гипохромазия, анизоцитоз, пойкилоцитоз, набухание, деформация и вакуолизация ядер эритроцитов, деформация моноцитов и разрушение нейтрофилов (рис. 13, 14).

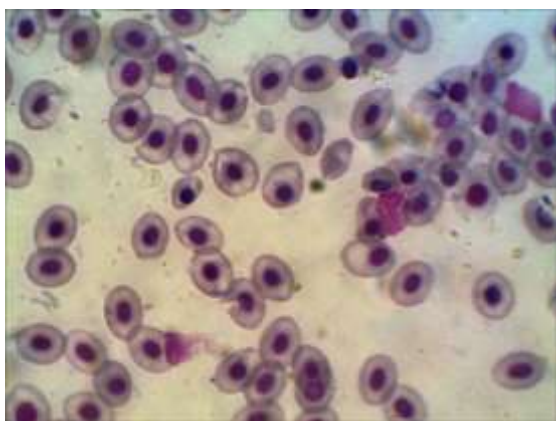


Рис. 13. Анизоцитоз, пойкилоцитоз, гипохромазия эритроцитов карпа (доза 1000 мг/кг). Ув. 90 × 10.



Рис. 14. Кровь карпа. Норма. Ув. 90 × 10.

Гистологическая картина не отличалась от контроля только при дозе 200 мг/кг. При дозе 500 мг/кг ткань селезенки, поджелудочной железы и кишечника были в норме. В печени встречались клетки с вакуолизированной цитоплазмой и кариопикнозом. В почках были участки отслоения эпителия канальцев с уменьшением и уплотнением ядер в его клетках.

Наиболее значительные патологогистологические изменения наблюдались в 4-й группе при введении дозы 1500 мг/кг. В печени обнаруживали уменьшение размера клеток, сглаживание их границ, зернистую дистрофию, деформацию единичных ядер гепатоцитов. В кишечнике отмечены обширные участки десквамации эпителия. В почках – застойная гиперемия в гемопозитической ткани, в единичных канальцах отслоение эпителия, а в отдельных клетках – зернистая дистрофия и кариопикноз, вакуолизация цитоплазмы.

При действии дозы 1000 мг/кг обнаружены сходные несколько менее выраженные изменения в печени: сглаживание границ и уменьшение размера клеток, зернистая дистрофия, единичные участки с вакуолизацией цитоплазмы печеночных клеток. В почках в отдельных группах канальцев ослаблена окраска ядер эпителия, в некоторых клетках встречался кариопикноз. Кишечник практически не отличался от нормы.

На основании проведенных исследований определены параметры токсичности Антибака 500: недействующая доза составила 200 мг/кг; максимально переносимая МПД (ЛД₀) – 500 мг/кг; абсолютная летальная доза (ЛД₁₀₀) – 1500 мг/кг; расчетная средняя летальная доза - 950 мг/кг. Максимально переносимая доза ципрофлоксацина превышает терапевтическую в 50 – 100 раз. Исходя из этого можно заключить, что Антибак 500 при внутрибрюшинном введении относится к 4-му классу - малотоксичным для рыб веществам.

2.6.2. Пероральное введение ципрофлоксацина

Для определения острой токсичности ципрофлоксацина при пероральном введении были сформированы 4 группы: 1-й группе вводили 1000 мг/кг, 2-й группе – 2000 мг/кг, 3-й группе – 2500 мг/кг, 4-й – 3000 мг/кг массы рыб, 5-я группа была контрольной, которой вводили 2%-ный крахмальный клейстер. Чистый ципрофлоксацин сначала растворяли в воде при нагревании в соотношении 1 : 5, затем добавляли такое же количество 2%-ного крахмального клейстера, что и воды. Полученную суспензию с

препаратом вводили в количестве, адекватном массе рыб через зонд 3 дня подряд. Длительность наблюдений составила 6 дней.

В 1-й группе клинических признаков и гибели рыб не отмечалось в течение всего периода наблюдения.

Во 2-й группе через 1 сутки у 33% рыб наблюдали небольшое нарушение координации движения (покачивание при плавании) и отсутствие аппетита. Через 3 суток симптомы отравления исчезли, и рыбы начали брать корм.

Выраженные признаки токсикоза проявлялись после введения доз 2500 и 3000 мг/кг. Через несколько часов после 3-го введения дозы 2500 мг/кг у 66,7% рыб периоды возбуждения сменялись угнетением (отсутствием реакции на внешние раздражители), а также отмечали нарушение координации движения (переворачивание на бок, вверх брюшком), а через 1 сутки все они погибли (гибель составила 66,7%).

После 1-го введения максимальной дозы 3000 мг/кг через 1 сутки наступила гибель 66,7% рыб, у которых были заметны кровоизлияния в глазных яблоках и неравномерная окраска жаберной ткани. Оставшиеся рыбы погибли через несколько часов после 3-го введения препарата. При их вскрытии обнаруживали белый зернистый налет под серозными оболочками внутренних органов в передней части брюшной полости. У всех погибших рыб 3-й и 4-й групп кишечник был заполнен густым белым творожистым содержимым, которое, по всей видимости, представляло собой введенный препарат.

В конце опытов были отобраны пробы для гематологических и гистологических исследований со всех групп.

При исследовании крови наибольшие количественные и качественные отклонения выявлены в 3-й и 4-ой группах, которые выражались анемией, нейтрофилией и лимфоцитопенией (табл. 21). Выраженная анемия характеризовалась снижением количества эритроцитов на 48,2% - в 3-й группе и на 36,6% - в 4-й группе по сравнению с контролем. Количество

Таблица 21

Картина крови сеголеток карпа при
пероральном введении 2500 мг/кг и 3000 мг/кг ципрофлоксацина (n = 8)

№ группы	Дозы, мг/кг	Гемоглобин, г%	Эритроциты, млн./мкл	Лейкоциты, тыс./мкл	Нейтрофилы, %			Моноциты, %	Лимфоциты, %
					Миелоциты	Палочко- ядерные	Сегменто- ядерные		
3.	2500	4,5±0,38	0,58±0,012	16,0±2,31*	14,5±2,11	3,0±0,15	1,0±0,12*	2,6±0,2	81,5±5,37
4.	3000	6,5±0,76*	0,71±0,012	18,0±2,17*	13,75±1,236	2,75±0,305	0,75±0,018*	3,0±0,44	79,75±8,356
5.	Конт- роль	8,02±0,843	1,12±0,045	18,2±0,91	0,75±0,023	0,45±0,013	0,62±0,074	0,88±0,076	97,3±6,12

* различия с контролем не достоверны (p > 0,05).

гемоглобина в 3-й группе было уменьшено на 43,9% против 19% - в 4-й группе. Сходными изменениями для обеих групп можно считать небольшой моноцитоз, а также увеличение числа нейтрофилов за счет миелоцитов в 13,4 раза – в 3-й группе и в 12,5 раза – в 4-й группе, а за счет палочкоядерных в 6,7 и 6,1 раза соответственно.

Качественные изменения клеток крови обнаружены только в группе с максимальной дозой введения (3000 мг/кг) – анизоцитоз, набухание эритроцитов, темные включения в их цитоплазме, гипохромазия, деформация нейтрофилов, наличие раздвоенных ядер в миелоцитах. В этих же группах наиболее выражены патоморфологические изменения.

Гистологическими исследованиями в печени при дозе 3000 мг/кг установлена выраженная вакуольная и зернистая дистрофии, отмечен очаговый некроз клеток. При дозе 2500 мг/кг выявлялась в основном вакуольная дистрофия, сглаживание границ клеток и кариопикноз в отдельных печеночных клетках (Рис. 15, 16).

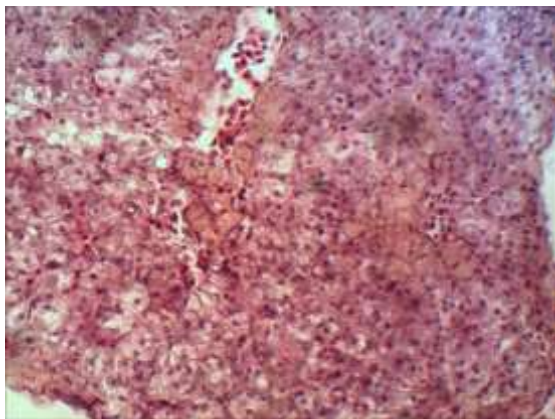


Рис. 15. Вакуольная и зернистая дистрофии, очаговый некроз клеток печени (доза 3000 мг/кг). Ув. 40 × 10.

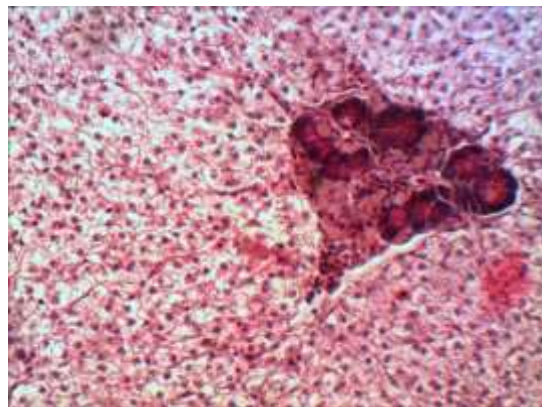


Рис. 16. Печень карпа. Норма. Контроль. Ув. 40 × 10.

В почках в обеих группах рыб отмечены признаки нефроза (кариопикноз в эпителии отдельных канальцев), приводящего к деструкции канальцев, а в 4-й группе и отслоение эпителия в канальцах, в некоторых из них - вакуольная дистрофия эпителиальных клеток (Рис. 17, 18).

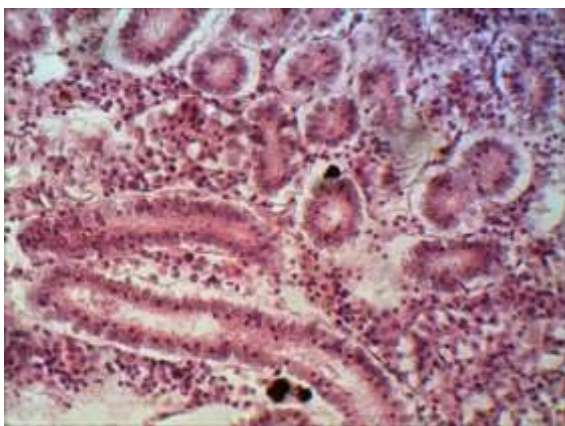


Рис.17. Вакуольная дистрофия, отслоение эпителия в канальцах почек карпа (доза 3000 мг/кг). Ув. 40 × 10.

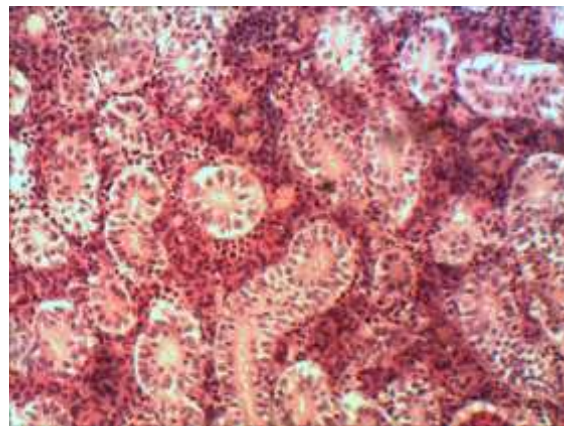


Рис. 18. Почка карпа. Норма. Контроль. Ув. 40 × 10.

В переднем отделе кишечника в 3-й группе существенных изменений не было, покровный эпителий не изменен, обнаруживались только очажки гиперхроматоза в отдельных группах эпителия. В 4-й группе в переднем отделе кишечника отмечены очаговые кровоизлияния в верхушки складок, очаговая десквамация и некроз эпителия, а в среднем отделе – застойная гиперемия в основании складок и подслизистой оболочке, очаговая десквамация эпителия на верхушках складок, распад слущенного эпителия, кариопикноз и кариорексис в клетках толщи складок (рис. 19, 20, 21, 22). В поджелудочной железе заметна очаговая дистрофия зимоцитов.

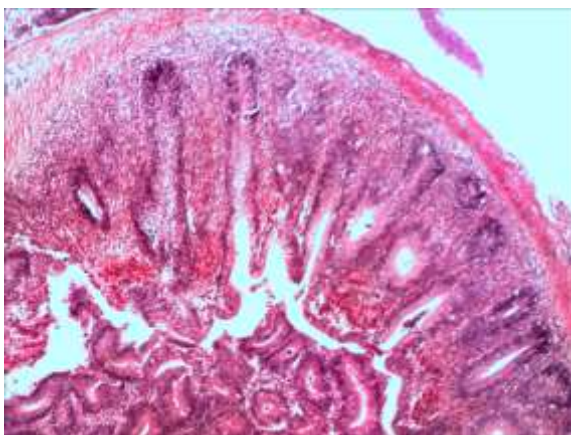


Рис. 19. Очаговые кровоизлияния в верхушках складок переднего отдела кишечника карпа (доза 3000 мг/кг). Ув. 10 × 10.

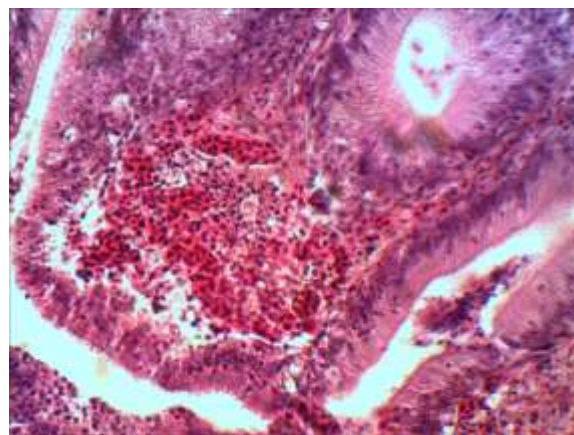


Рис. 20. То же. Ув. 40 × 10.

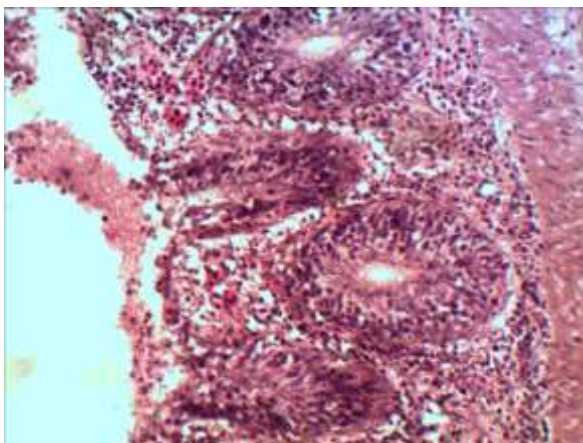


Рис. 21. Распад слизистого эпителия складок среднего отдела кишечника карпа (доза 3000 мг/кг). Ув. 40 × 10.

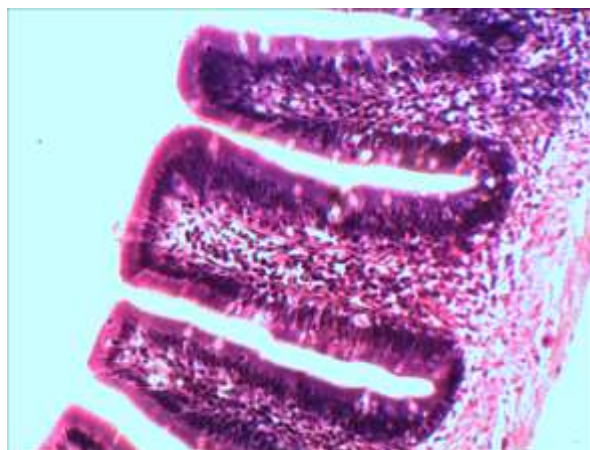


Рис. 22. Средний отдел кишечника карпа. Норма. Ув. 40 × 10. Контроль.

Параметры токсичности ципрофлоксацина при данном способе введения составили: максимальная переносимая доза МПД (LD_0) – 2000 мг/кг; абсолютная смертельная доза (LD_{100}) – 3000 мг/кг; расчетная средняя летальная доза (LD_{50}) – 2417 мг/кг.

Максимально переносимая доза ципрофлоксацина при пероральном применении превышала терапевтическую дозу в 20 – 100 раз. Исходя из этого, можно заключить, что при пероральном введении Антибак 100 относится к малотоксичным веществам (4-му классу).

2.6.3. Обработка в растворе Антибака 250

Опыт был поставлен на мальках сибирского осетра, которых помещали в растворы с Антибака 250 с концентрациями: 500 мг/л; 100 мг/л; 50 мг/л; 20 мг/л (по д. в.). В итоге гибель всех опытных рыб установлена через 24 часа в концентрации 500 мг/л, концентрация 100 мг/л не вызывала гибели рыб, в остальных погибли единичные рыбы (10 – 20%).

Параметры токсичности Антибака составили: LK_0 – 100 мг/л; LK_{100} – 500 мг/л; LK_{50} – 350 мг/л, что свидетельствует о его малой токсичности для мальков осетра.

2.7. Производственные испытания лечебно-профилактической эффективности Антибака

2.7.1. Производственное испытание Антибака 100 при аэромонозе карпов

С целью изучения терапевтической эффективности Антибака 100 в июне – августе 2002 года совместно с сотрудниками НВЦ «Агроветзащита» был поставлен производственный опыт в нагульных прудах ЗАО «Рыбхоз Клинский» на 2-х-, 3-х-, 4-х-, 5-тилетках карпа (см. приложение № 1). Препарат использовали в составе лечебного корма по вышеописанной методике. Пруды подбирали по принципу аналогов, то есть примерно одинаковые по плотности посадки рыб и эпизоотическому состоянию по аэромонозу карпов.

В качестве опытных служили 4 пруда, расположенных на 3-х участках: №3 и №4 – на Дятловском, №2 – на Владимирском, №4 – на Яузском участке. Для контроля использовали нагульные пруды №1 и №3 Яузского участка и №2 Дятловского участка, в которых лечебный корм с Антибаком 100 не скармливали, а в мае месяце применялся субалин с кормом. Клиническое состояние рыб в опытных и контрольных прудах было примерно одинаковое. Болезнь протекала хронически, проявлялась наличием очагов покраснений на плавниках, боковых стенках, небольших язв, у единичных рыб - брюшной водянкой. Полученные результаты представлены в таблице 22.

Через 10 дней во время контрольного отлова в опытном пруду №4 Дятловского участка, где рыбу обрабатывали 3-хкратно, отмечено затухание инфекции, выразившееся снижением количества больных рыб с 26% до 6,1%, заживлением язв, слабо выраженными покраснениями на коже. До обработки препаратом при бактериологических исследованиях выделяли аэромонады, псевдомонады, энтеробактерии и бактерии рода *Plesiomonas*, а после обработки – только единичные колонии бактерий родов *Pseudomonas*, *Flavobacterium* и *Acinetobacter*. При заключительном обследовании пруда во

Таблица 22

Терапевтическая эффективность Антибака 100 при аэромонозе карпов в рыбхозе «Клинский»

Группы	Участок, № пруда	Площадь пруда, га	Возраст рыб	Количество рыб в пруду, тыс. шт.	Плотность посадки, тыс. шт./га	Средняя масса рыб, г	Доза препарата, кратность обработки	Количество больных рыб до обработки	Количество больных рыб после обработки
								%	%
Опытные	Дятловский, №4	102	К ₃₊	132,6	1,3	700	250 мг/кг 3-хкратно через день	26	6,1
	Владимирский, №2	50	К ₂₊₃₊	50	1,0	780	250 мг/кг 3-хкратно через день	30	8
	Яузский, №4	3	К ₃₊₅₊	3,0	1,0	800	250 мг/кг 3-хкратно через день	30	7,7
	Дятловский, №3	90	К ₁₊	225	2,5	464	500 мг/кг 5-тикратно через день	35,2	0
Контрольные	Яузский, №1	95	К ₁₊	190	2,0	350	-	15	16,5
	Яузский, №3	103	К ₃₊	154,5	1,5	500	-	17	18,9
	Дятловский, №2	155	К ₂₊₃₊	279	1,8	505	-	36,6	35,3

время окончательного облова в августе признаки аэромоноза не обнаружены, за исключением травматических повреждений, при лабораторном исследовании бактерии не выделены.

В опытном пруду №2 Владимирского участка, где рыба также была обработана 3-хратно, и ранее выделялись аэромонады, после обработки отмечено некоторое ослабление инфекции в виде обнаружения единичных кровоизлияний и заживления язв только у 8% рыб (рис. 23), тогда как до кормления лечебным кормом у 30% рыб наблюдали характерные признаки аэромоноза (язвы, покраснение брюшка, плавников). При бактериологическом исследовании выделены микроорганизмы родов *Acinetobacter*, *Plesiomonas* и *Flexibacter*, а также единичные колонии вирулентных аэромонад (*A. veronii*, *A. sobria*).



Рис. 23. Трехлесток карпа. Заживающая язва через 8 суток после обработки Антибаком 100.

В опытном пруду №4 Яузского участка после такой же обработки число больных рыб снизилось с 30% до 7,7%. При этом состояние рыб значительно улучшилось, у большинства рыб язвы зарубцевались или были в стадии рубцевания, а посевах бактерии вообще не выделялись.

В опытном пруду №3 Дятловского участка после 5-тикратного кормления клинические признаки аэромоноза отсутствовали, отмечено заживление язв, но у некоторых рыб обнаружены травмированные участки кожи. Если до обработки при бактериологическом исследовании выделяли энтеробактерии, вирулентные и авирулентные аэромонады, то после обработки происходил рост только единичных колоний энтеробактерий.

В контрольных прудах №1 и №3 Яузского участка весь период наблюдений с июня по август отмечали явно выраженные симптомы аэромоноза примерно на таком же уровне, как и до обработки опытных прудов – покраснение брюшка, плавников, язвы, точечные кровоизлияния на брюшной стенке. От всех рыб из этих прудов, отобранных для лабораторных исследований, были выделены вирулентные и авирулентные бактерии рода *Aeromonas* (*A. veronii*), ацинетобактерии и энтеробактерии.

В контрольном пруду №2 Дятловского участка также наблюдали клинические признаки аэромоноза, в том числе его острой формы – асцит, ерошение чешуи, покраснение брюшка и анального кольца, а также язвы. При бактериологическом исследовании от больных рыб выделялись вирулентные аэромонады (*A. hydrophila*), а от клинически здоровых – псевдомонады.

В связи с тем, что в середине мая 2003 года в отдельных нагульных прудах хозяйства были отмечены начальные признаки аэромоноза, было проведено повторное производственное испытание лечебно-профилактической эффективности Антибака 100. Для предотвращения вспышки заболевания в конце мая во всех нагульных прудах и питомнике было проведено кормление рыб лечебным кормом с Антибаком 100 3-хкратно. Доза препарата составила 500 мг/кг массы рыб. В результате при обследовании товарной рыбы в июле – сентябре характерных признаков аэромоноза не обнаружено, только у 0,89% рыб наблюдали небольшое покраснение кожного покрова в области брюшка.

В июле 2008 года в связи с вспышкой бранхиомикоза, осложненного бактериями рода *Aeromonas*, двухлетки и сеголетки карпов во всех прудах были подвергнуты обработке Антибаком 100 в дозе 500 мг/кг путем дачи лечебного комбикорма в течение 5 дней подряд. А для борьбы с бранхиомикозом применяли внесение негашеной извести по воде из расчета 150 кг/га водной площади. Во время заключительного обследования стада рыб, проведенного в период осеннего облова прудов, признаков бранхиомикоза и аэромоноза не установлено, бактериальная микрофлора не выделена.

Таким образом, применение Антибака в обоих хозяйствах дало положительный эффект.

2.7.2. Производственное испытание Антибака 100 и Антибака 250 при флексибактериозе форели и сибирского осетра

Производственные опыты были поставлены в марте – июне 2003 года в рыбхозе «Новомичуринский» на сеголетках форели и на мальках и сеголетках сибирского осетра.

Опыт №1 проведен в марте в бассейнах инкубационного цеха при температуре воды 12°C на сеголетках форели массой 10 – 12 г, у которых нами был диагностирован флексибактериоз, осложненный бактериями рода *Pseudomonas* (рис. 5). Опыт проведен в 2 этапа. Вначале провели пробную обработку 1000 экз. сеголеток форели и после получения положительного результата поставили основной опыт. Опытной группе в количестве 20 тыс. штук (200 кг) задавали с кормом Антибак 100 в дозе 500 мг/кг массы рыб (50 мг/кг по д. в.) в течение 5 дней подряд и параллельно однократно провели обработку рыб раствором хлорамина в концентрации 60 г/м³ с экспозицией 60 мин.

При последующих контрольных обследованиях форели установлено, что через 10 – 15 дней после обработки Антибаком гибель рыб полностью прекратилась, клинические признаки заболевания исчезли, через 30 дней

больных рыб также не обнаружено, и в течение всего периода летнего выращивания обработанной рыбы рецидива болезни не отмечено.

Опыт №2 поставлен в июне на мальках и сеголетках сибирского осетра, содержащихся в лотках, при температуре воды 20 - 22°C во время вспышки флексибактериоза. Описание характера течения и проявления болезни см. стр. 61 – 66, рис. 4, 6, 7. Для этого сформировали 4 опытных и 1 контрольную группу по 1000 экземпляров рыб в каждой. Опыт проводился без проточности воды с аэрацией микрокомпрессорами. Лечебную эффективность Антибака определяли через 5 суток в разных вариантах его применения, а также в сравнении с тетрациклином. Схема и результаты опыта представлены в таблице 23.

В конце опыта в лотке №1, где лечение проводили комбинацией Антибака 100 с кормом и Антибака 250 в растворе, заболеваемость рыб снизилась, но у 1,6% рыб обнаружены остаточные признаки болезни: покраснения вокруг жучек, небольшие язвочки. При этом следует отметить, что при обработке раствором Антибака 250 у мальков осетра наблюдалось повышенное выделение слизи и признаки кислородного голодания, что потребовало усиление аэрации и включения проточности воды.

В лотке №2, где задавали Антибак с кормом, у 5,5% рыб также отмечены остаточные признаки болезни: небольшие очажки воспаления на коже и язвочки.

В лотке №3, где лечение проводили комбинацией Антибака 100 с кормом и раствором хлорамина, все рыбы выздоровели, клинически больных не обнаружено.

В лотке №4, где лечение проводили комбинацией тетрациклина с кормом и раствором хлорамина, также произошло выздоровление, клинически больных рыб не обнаруживали.

В контрольной группе у 8,5% рыб обнаружены выраженные признаки флексибактериоза: крупные очаги некроза и язвы на коже, осложненные сапролегниозом, покраснения вокруг жучек.

Таблица 23

Результаты опыта по определению терапевтической эффективности Антибака при флексибактериозе мальков и сеголеток сибирского осетра

№ лотка	Посажено рыб, шт.	Варианты опытов	Дозы препаратов	Выловлено рыб, шт.	Клинически осмотрено, шт.		
					всего	больных	
						шт.	%
1.	1000	Антибак 100 с кормом + р-р Антибака 250 (5-тикратно)	Антибак 100 – 1 г/кг Антибак 250 – 20 г/м ³ (экспозиция – 40 - 60 мин.)	625	121	2	1,6
2.	1000	Антибак 100 с кормом (5-тикратно)	Антибак 100 – 1 г/кг	815	127	7	5,5
3.	1000	Антибак 100 с кормом (5-тикратно) + р-р хлорамина (10-тикратно)	Антибак 100 – 1 г/кг хлорамин - 60 г/м ³ (экспозиция – 60 мин.)	795	102	0	0
4.	1000	Тетрациклин с кормом + р-р хлорамина (10-тикратно)	тетрациклин – 70 мг/кг хлорамин - 60 г/м ³ (экспозиция – 60 мин.)	811	111	0	0
5.	1000	Контроль	-	590	117	10	8,5

При бактериологическом исследовании рыб из всех опытных групп после проведенных обработок патогенные для рыб микроорганизмы не выделены, но установлена средняя и низкая степень обсемененности внутренних органов бактериями рода *Acinetobacter*. От контрольных рыб из внутренних органов и жабр были выделены возбудители болезни: флексибактерии и аэромонады (*A. schubertii*, *A. eucrenophila*).

В результате проведенного опыта была установлена достаточно высокая лечебная эффективность Антибака при флексибактериозе, достигающая при сочетанном применении Антибака 100 с кормом и Антибака 250 в ваннах 81,2%, а в сочетании Антибака 100 с хлораминовыми ваннами – 100%.

При применении тетрациклина с кормом в сочетании с хлораминовыми ваннами получены сходные по лечебной эффективности результаты (80,4%), но курс лечения длился в 2 раза дольше.

Таким образом, Антибак 100 выгодно отличается от тетрациклина по дозировкам и меньшей кратности применения.

2.8. Экономическая эффективность от применения Антибака 100

1. По результатам осеннего облова средняя масса двухлеток карпа в опытном Дятловском пруду №3 составила 464 г, в контрольном Яузском пруду №1 – 350 г.

Рыбопродуктивность в опытном пруду составила:

$$0,464 \text{ кг} \times 2500 \text{ шт/га} = 1160 \text{ кг/га} = 11,6 \text{ ц/га};$$

в контрольном пруду – $0,35 \text{ кг} \times 2000 \text{ шт/га} = 700 \text{ кг/га} = 7 \text{ ц/га}$.

Рыбопродуктивность в опытном пруду оказалась на 4,6 ц/га выше, чем в контрольном.

Стоимость 1 кг карпа – 112 руб.

Стоимость рыбы с 1 га опытного пруда составила:

$$112 \text{ руб.} \times 1160 \text{ кг} = 129920 \text{ руб.}$$

Стоимость рыбы с 1 га контрольного пруда составила:

$$112 \text{ руб.} \times 700 \text{ кг} = 78400 \text{ руб.}$$

Прибыль от применения лечебного корма в опытном пруду составила:

$$129920 \text{ руб.} - 78400 \text{ руб.} = 51520 \text{ руб.}$$

2. Затраты:

Количество препарата, необходимое для обработки рыбы, полученной с 1 га площади пруда:

$$1160 \text{ кг/га} \times 0,5 \text{ г/кг} \times 5 \text{ дней} = 2,9 \text{ кг}$$

Стоимость Антибака 100 – 1078 руб/кг. Общая стоимость препарата, необходимого для обработки рыбы, полученной с 1 га площади пруда, составила:

$$2,9 \text{ кг} \times 1078 \text{ руб/кг} = 3126,2 \text{ руб.}$$

На подготовку лечебного корма рыбоводом за сезон затрачено 44 часа.

Один час работы рыбовода стоит:

$$15000 \text{ руб.} : 22 \text{ дня} = 681,8 \text{ руб/день}; 85,2 \text{ руб/час}$$

$$85,2 \text{ руб/час} \times 44 \text{ часа} = 3748,8 \text{ руб.}$$

Итого затрат:

$$3126,2 \text{ руб.} + 3748,8 \text{ руб.} = 6875 \text{ руб.}$$

3. Чистый доход складывается из прибыли за вычетом затрат на препарат и обслуживание. Таким образом, чистый доход от проведенных мероприятий по обработке рыбы, полученной с 1 га площади опытного пруда, составил:

$$129920 \text{ руб.} - 78400 \text{ руб.} - (3126,2 \text{ руб.} + 3748,8 \text{ руб.}) = 44645 \text{ руб.}$$

Из таблицы 24 видно, что прибыль от применения Антибака за счет рыбной продукции, полученной с 1 га площади прудов, составляет 44645 руб. Поэтому использование Антибака с лечебно-профилактической целью является экономически эффективным.

Таблица 24

Экономическая эффективность применения препарата Антибак 100

Показатели	Опыт	Контроль
Рыбопродуктивность, ц/га	11,6	7,0
Количество рыб, тыс. шт./га	2500	2000
Средняя масса 1 экз., г	464	350
Стоимость 1 кг рыбы	112 руб.	112 руб.
Стоимость рыбы (с 1 га пруда)	129920 руб.	78400 руб.
Количество препарата (на 1 га), кг	2,9	-
Стоимость израсходованного препарата (на 1 га)	3126,2 руб.	-
Прибыль (с 1 га)	44645 руб.	-

3. Обсуждение полученных результатов

Эпизоотическая ситуация в Центральном регионе по таким бактериальным заболеваниям рыб, как аэромоноз, псевдомоноз карпов и флексибактериоз осетровых и форели на протяжении последних лет остается напряженной.

В период с 2002 г. по 2008 г. нами было подтверждено неблагополучие ЗАО «Рыбхоз Клинский» (Московская область) по аэромонозу карпов, а также рыбхоза «Новомичуринский» (Рязанская область) по флексибактериозу молоди осетровых и форели. Кроме этого было выявлено 2 новых пункта в Московской области, предназначенных для любительской рыбной ловли, в которых вспышки аэромоноза и псевдомоноза карпов возникли в результате завоза рыбы из неблагополучных рыбхозов. Это подтверждает тот факт, что решающим фактором в возникновении инфекционных болезней являются бесконтрольные перевозки рыб.

Эпизоотологический анализ показывает, что по таким болезням, как аэромоноз, обстановка кардинально не улучшается в течение многих лет (М.Н. Борисова и др., 2007; М.В. Калмыков, В.И. Белоусов, 2009). Этому способствует во многом не полное проведение оздоровительных мероприятий в рыбхозах, недостаточное и нерегулярное использование лечебных средств и дезинфектантов, а также воздействие неблагоприятных зоогигиенических условий, нарушение технологии выращивания рыб. Длительное влияние этих факторов в связи со сложной этиологической структурой аэромоноза является причиной перехода заболевания в хроническую форму с периодическими сезонными обострениями.

Нашими исследованиями в ЗАО «Рыбхоз Клинский» была установлена хроническая инфекция карпов, вызванная аэромонадами в ассоциации с другими грамотрицательными микроорганизмами (псевдомонадами, ацинетобактериями, энтеробактериями и др.). Определение патогенности выделенных бактерий показало, что ведущую роль в возникновении

заболевания играли вирулентные аэромонады нескольких видов, тогда как микроорганизмы других родов были, как правило, авирулентны.

Рыбхоз «Новомичуринский», являющийся тепловодным хозяйством, в течение нескольких лет считался неблагополучным по флексибактериозу молоди карпа (Н.В. Гусева, И.С. Щелкунов, 1999), а затем и молоди осетровых. В ходе регулярных обследований хозяйства нами выяснено, что вспышки флексибактериоза среди сеголеток форели наблюдаются в марте при температуре 10 - 12°C, а среди сеголеток и мальков сибирского осетра – в мае – июне при температуре 20 - 25°C. К осени при понижении температуры воды болезнь затухала, но клинические признаки полностью не исчезали. В период обострения у молоди форели и сибирского осетра наблюдались характерные симптомы и гибель части рыб.

Этиологические особенности и клиническая картина заболевания, отраженные в работах некоторых авторов, подтверждают полученные нами данные. Возникновение флексибактериозов, распространенных, как правило, в тепловодных хозяйствах, связано с выращиванием рыбы в условиях интенсивной аквакультуры, что приводит к снижению резистентности их организма под влиянием целого ряда неблагоприятных факторов (Н. Wakabayashi, 1991; E.J. Noga, 1995). При этом интенсивность проявления заболевания зависит от температуры воды. Инфекция начинает развиваться при температуре выше 12°C, а в процессе ее дальнейшего увеличения до 20°C и более отмечается максимальная смертность рыб (Просыная и др., 1978; J.L. Fryer, K.S. Pilcher, 1974).

Из описанных в литературе изменений нами у форели зафиксированы серо-белые пятна на поверхности тела, отечность жабр, эрозии плавников, язвы, бледность печени, разрыхление и мажущаяся консистенция почек (W. Schäperclaus, 1979; G.L. Bullock et al., 1971; Просыная и др., 1978; Н.В. Гусева, И.С. Щелкунов, 1999). В выделенной микрофлоре от больных рыб преобладали флексибактерии в ассоциации с аэромонадами, псевдомонадами и ацинетобактериями. У сибирского осетра симптомы были достаточно

характерны для флексибактериоза – побледнение кожи в области спины («серое седло»), разрушение жучек, язвы, осложненные сапролегнией.

В рыбхозах «Клинский» и «Новомичуринский» с целью оздоровления от аэромоназа и флексибактериоза предпочтение отдавалось комплексному методу. По сравнению с летованием использование этого метода, включающего в себя сочетание карантинных, ветеринарно-санитарных мероприятий и лечебных обработок, является экономически более целесообразным. Однако длительное применение таких лекарственных средств, как антибиотики, сульфаниламидные и нитрофурановые препараты, показало их недостаточную эффективность из-за формирования устойчивых к ним форм бактерий и отсутствия гарантии пищевой безопасности выращиваемой рыбы. В связи с этим нами были исследованы наиболее важные фармакологические свойства и возможность использования в рыбоводстве ципрофлоксацина – одного из перспективных фторхинолоновых препаратов.

При оценке антибактериальной активности различных препаратов нами отмечено, что аэромонады и флексибактерии, выделенные из рыбхозов «Клинский» и «Новомичуринский» оказались наиболее чувствительны к ципрофлоксацину по сравнению с тетрациклином, окситетрациклином, левомицетином, стрептомицином, гентамицином и нифурпиринолом.

Нами установлено, из трех фторхинолоновых препаратов (ципрофлоксацин, энрофлоксацин и норфлоксацин) ципрофлоксацин обладает наиболее высокой активностью в отношении аэромонад и псевдомонад. К энрофлоксацину и норфлоксацину аэромонады также показали значительную чувствительность, но псевдомонады оказались высоко устойчивыми. Это подтверждает данные литературы о том, что бактерии рода *Pseudomonas* отличаются от аэромонад более высокой устойчивостью к антибиотикам и другим химиопрепаратам (К.А. Лобунцов, 1986). Так, согласно нашим данным МПК ципрофлоксацина в отношении некоторых псевдомонад, выделенных от рыб, была в 2 – 4 раза выше, чем

МПК для аэромонад. Считается, что по сравнению с другими фторхинолонами в отношении псевдомонад наиболее активен цiproфлоксацин. Исключением является *P. aeruginosa*, который отличается от остальных видов псевдомонад наиболее высокой устойчивостью к данному препарату (Е.Н. Падейская, В.Э. Мнацаканян, 1993; *Quinolone Antimicrob.*, 1993; Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев, 1998). Поскольку *P. aeruginosa* не является патогеном для рыб, цiproфлоксацин по степени воздействия на выделенные псевдомонады имеет существенное преимущество по сравнению с вышеуказанными препаратами.

Внедрение и широкое применение цiproфлоксацина в медицине и ветеринарии стало возможным благодаря изученности его фармакологических свойств. В связи с перспективностью применения цiproфлоксацина в качестве лекарственного средства для борьбы с бактериальными болезнями рыб, возникла необходимость изучить его взаимодействие с организмом рыб как пойкилотермных животных, так как по данному вопросу в литературе отсутствовали научно обоснованные рекомендации.

Известно, что в организме человека из всех фторхинолонов цiproфлоксацин обладает максимальной скоростью всасывания из желудочно-кишечного тракта, достигая за 1 – 3 часа в крови 60 – 80% от введенной дозы препарата, а также хорошо проникает в различные ткани и органы, создавая там концентрации, во много раз превышающие сывороточные (В.П. Яковлев, 1993).

Механизм поступления лекарственных веществ в организм рыб, их распределение и выведение во многом подчиняется тем же закономерностям, что и у высших позвоночных. Но интенсивность этих процессов у рыб, как правило, ниже и обусловлена факторами внутренней и внешней среды.

Нами впервые проведено изучение фармакокинетики цiproфлоксацина в организме карпов при пероральном, внутрибрюшинном и перкутанном методах введения и установлено, что его биодоступность при разных

способах введения значительно различается. В наших опытах на сеголетках карпа препарат показал высокую степень проникновения в организм. Быстрее всего он всасывался в кровь и внутренние органы при внутрибрюшинном введении и достигал там максимума уже через 1 час независимо от его дозы. При этом отмечена максимальная биодоступность Антибака 500 и в зависимости от вводимой дозы она колебалась от 68% до 100% и более.

При пероральном введении этот процесс проходил на 1 – 4 часа дольше, что связано, вероятно, с нерастворимостью в воде Антибака 100 и поэтому более длительным всасыванием его в кишечнике. Биодоступность в данном случае оказалась значительно ниже – 2,6% - 13% при дозах 100 мг/кг и 20 мг/кг соответственно. Прослеживалась та же зависимость, что и при внутрибрюшинном введении – с повышением дозы препарата увеличиваются его содержание в организме и период полувыведения, а биодоступность, наоборот, снижается.

Обработка сеголеток карпа в растворе Антибака 500 с концентрацией 25 мг/л позволила выявить в крови лишь следы препарата. Поэтому данная доза оказалась слишком низкой для определения биодоступности. После помещения рыб в раствор Антибака 500 несмотря на то, что препарат в крови практически не улавливался, в мышцах, кишечнике и жабрах он находился на максимальном уровне спустя 1 час после начала обработки. А в паренхиматозных органах его наибольшее накопление отмечено через 3 часа. Столь быстрое проникновение ципрофлоксацина в эти органы связано, по-видимому, с тем, что он, как и другие водорастворимые лекарственные вещества, проникает в организм рыб осмотически через жабры, кожу и слизистые оболочки.

Анализ литературных сведений не дает основания полагать, что ципрофлоксацин накапливается в организме человека и млекопитающих. Такую же тенденцию можно отметить и у рыб. Так, при всех методах введения уровень содержания ципрофлоксацина в органах рыб практически

не повышался при увеличении кратности его введения. Выведение препарата после обработки рыб в растворе Антибака быстрее всего происходило при последующем помещении рыб в чистую воду. Нами установлено, что при ежедневной 5-ти часовой обработке рыб в течение 5 дней подряд большее накопление ципрофлоксацина оказалось в кишечнике по сравнению с однократной обработкой, а срок полного выведения препарата из организма в обоих случаях составил 3 суток. Учитывая то, что максимальное накопление ципрофлоксацина через 1 – 1,5 часа обработки наблюдалось именно в кишечнике, можно предположить, что он является одним из путей активного выведения препарата. У человека большая часть ципрофлоксацина выводится с мочой, однако кишечник также принимает участие в этом процессе: до 30% препарата выводится с фекалиями после приема внутрь и до 15% - после внутривенного введения (R. Rohwedder et al., 1990).

После однократного внутрибрюшинного введения испытуемых доз препарата период его полувыведения из плазмы крови оказался не более 4 часов, а полностью он выводился из организма рыб через 7 суток.

Дольше всего ципрофлоксацин задерживался в организме карпов при пероральном введении дозы 100 мг/кг. При этом период полувыведения из плазмы при однократном введении составил 24 часа. В крови и мышцах через 10 суток он не обнаруживался, но в паренхиматозных органах сохранялся в бактериостатической концентрации до 20 суток и более. Таким образом, при однократном введении сеголеткам карпа препарата в дозе 100 мг/кг живой массы рыб максимальное накопление его в органах при температуре 18 - 20°C происходит через 2 – 5 часов и составляет по д. в.: в крови – 2,6 мкг/мл, в смешанных пробах паренхиматозных органов – 4,8 мкг/г, в мышцах – 2,3 мкг/г, затем происходит постепенное снижение его концентрации: из крови он исчезает через 72 часа, из мускулатуры выводится через 7 – 10 дней, а во внутренних органах через 5 дней его содержание снижается в 3 – 4 раза, а полное выделение остатков происходит не менее чем через 20 дней. Следовательно, периодом ожидания можно считать 7 – 10

дней, так как за это время ципрофлоксацин полностью выделяется из мышц – съедобной части тушки товарной рыбы.

Данные J.F.M. Nouws et al. (1988) также свидетельствуют о более длительном периоде полувыведения ципрофлоксацина у рыб по сравнению с млекопитающими. Так, после внутривенного и внутримышечного введения препарата данный показатель у карпа составил 14 и 20 часов соответственно, тогда как у человека, свиней и телят он равняется 2,5 часам. Это связано с тем, что из организма млекопитающих препарат выводится преимущественно за счет активных выделительных процессов в почках при помощи клубочковой фильтрации, а из организма рыб он, по-видимому, элиминируется путем пассивной диффузии и выводится через почки, кишечный тракт с желчью и калом, а также через жабры.

Сопоставление результатов опытов по изучению фармакокинетики и лечебно-профилактической эффективности ципрофлоксацина позволило выявить ряд закономерностей.

В экспериментальных условиях нам не удалось добиться выраженного лечебного эффекта ципрофлоксацина после искусственного воспроизведения клинической картины аэромноза у подопытных карпов. В то же время, он оказывал существенный лечебно-профилактический эффект, когда применялся до заражения рыб патогенными культурами аэромонад и псевдомонад или до начала развития симптомов болезней.

Однократное пероральное введение карпам Антибака 100 в дозах 50 и 100 мг/кг оказалось наиболее эффективным при экспериментальном заражении их вирулентными аэромонадами. А меньшая эффективность дозы 20 мг/кг обусловлена более низким содержанием ципрофлоксацина в организме рыб и быстрым его выведением.

Изучение лейкограммы опытных рыб после 5-ти кратного кормления Антибаком 100 в дозе 0,5 г/кг массы рыб (50 мг/кг по д. в.) и последующего однократного заражения вирулентной культурой *A. sobria* показало небольшое увеличение количества нейтрофилов (в 1,5 раза). В то время как у

необработанных препаратом зараженных той же культурой рыб отмечали значительную нейтрофилию (увеличение нейтрофилов в 4,9 раз) и моноцитоз (увеличение моноцитов в 2,6 раз) и небольшое снижение процента лимфоцитов (на 6,7%). Резкая нейтрофилия и моноцитоз под влиянием патогенной культуры аэромонад свидетельствуют, что фагоцитарная реакция у карпов осуществляется в основном нейтрофилами и моноцитами (Ю.Д. Нечипоренко, П.С. Лященко, 1971).

Таким образом, у рыб, потреблявших препарат в терапевтических дозах, значимых изменений крови не выявлено. Поэтому с целью лечения рыб в зависимости от степени проявления и тяжести течения болезни следует применять Антибак 100 в дозах 0,5 г/кг и 1 г/кг массы рыб (50 и 100 мг/кг по д. в.). Для поддержания ципрофлоксацина в организме рыб курс лечения должен составлять 3 – 5 дней с дачей препарата ежедневно.

При внутрибрюшинном введении 2,5; 5; 10 мг/кг (по д. в.) массы рыб все дозы оказались достаточно эффективны против вирулентных аэромонад и псевдомонад. Выживаемость рыб при этом различалась незначительно. Содержание ципрофлоксацина и длительность его нахождения в крови достигало максимальных значений после введения дозы 10 мг/кг. После однократного введения вышеперечисленных трех доз Антибака 500 и 4-х кратных заражений вирулентной культурой *Pseudomonas* sp. у подопытных при дозах 2,5 и 10 мг/кг существенных изменений количества эритроцитов и уровня гемоглобина не наблюдалось. Достоверное повышение уровня этих показателей и выраженная нейтрофилия при дозе 5 мг/кг, а также умеренный лейкоцитоз во всех 3-х группах и моноцитоз при дозе 2,5 мг/кг указывает на усиление эритропоэза и активизацию фагоцитоза у выживших рыб. Отсутствие клинических признаков и патологоанатомических изменений в паренхиматозных органах у большей части ранее заболевших рыб подтверждает то, что они фактически выздоровели и имели достаточно высокий уровень общей резистентности организма. Исходя из этого, путем

внутрибрюшинного введения препарата для лечения псевдомоноза рыб можно рекомендовать дозу 10 мг/кг, а для лечения аэромоноза рыб – 5 мг/кг.

Обработка рыб в растворе Антибака 500 с концентрацией 25 мг/л показала наименьшую эффективность по сравнению с другими способами применения препарата, что связано, по-видимому, с его небольшой биодоступностью и быстрым выведением из организма. Данная доза оказалась недостаточной для создания бактерицидной концентрации в крови сеголеток карпа и обеспечения более длительного нахождения ципрофлоксацина в их организме.

У обработанных препаратом рыб была установлена длительная невосприимчивость к вирулентным аэромонадам и псевдомоонадам. При заражении рыб после полного выведения препарата, когда не отмечалось угнетение роста тест-культуры на питательных средах, его профилактического действия нами не наблюдалось. Но если рыб первый раз заражали в момент максимальной концентрации ципрофлоксацина в организме, а последующие подзаражения проводили при постепенном снижении его концентраций и после полного выведения препарата, то отмечали устойчивость рыб к заражению не менее чем в течение 52 суток после 5-ти кратного скармливания Антибака 100 и не менее чем в течение 27 суток после внутрибрюшинного однократного введения Антибака 500.

После 5-ти кратного скармливания Антибака 100 и последующих 4-х заражений *A. sobria* у опытных рыб гибель не наступала, клиническая картина была более сглажена, а также происходило выздоровление больных рыб. При однократном внутрибрюшинном введении Антибака 500 и 4-х кратных заражениях *Pseudomonas* sp. наблюдалась та же тенденция.

Считается, что в высоких дозах антибактериальные препараты действуют в основном угнетающе на процессы иммуногенеза и выступают в роли иммунодепрессантов, а в низких и терапевтических – могут стимулировать иммуногенез. Согласно литературным данным, полученным на теплокровных животных, ципрофлоксацин в терапевтических дозах

повышает фагоцитоз и внутриклеточный киллинг микроорганизмов, а также усиливает синтез иммуноглобулинов (Б.В. Виолин и др., 2001). Это объясняется тем, что препарат, губительно действуя на бактериальные клетки и способствуя выработке антигенов, тем самым активизирует защитные системы и стимулирует более активный иммунный ответ организма (В.Д. Соколов и др., 2002). Поэтому установленный нами длительный профилактический эффект ципрофлоксацина при заражении рыб в опыте I вар. 2 (с. 85) и в опыте II (с. 89) можно объяснить действием подобного механизма активизации иммунной защиты у рыб. Косвенно на это указывают наши данные гематологических исследований.

Результаты лабораторных экспериментов подтверждены нами при испытании Антибака в производственных условиях. В рыбхозе «Клинский», где аэромоноз карпов протекал хронически, нами было испытано 2 схемы применения препарата: в дозах 0,25 и 0,5 г/кг массы рыб (25 и 50 мг/кг по д. в.). Так, при 3-х дневном курсе дачи с комбикормом Антибака 100 в дозе 0,25 г/кг ихтиомассы с лечебно-профилактической целью установлено снижение заболеваемости рыб аэромонозом, не отмечено повторной вспышки болезни в течение летнего сезона, но не была обеспечена полная деконтаминация их организма от патогенных аэромонад. В то же время, при его применении в дозе 0,5 г/кг получен более высокий лечебный и профилактический эффект с предотвращением рецидива заболевания в течение нагульного сезона и деконтаминацией рыб от патогенной микрофлоры. На основании лабораторных исследований производственных испытаний для лечения аэромоноза мы рекомендуем применять Антибак 100 минимум в дозе 0,5 г/кг массы рыб (50 мг/кг по д. в.) в течение 3 – 5 дней в зависимости от тяжести и остроты проявления болезни, а с профилактической целью – в дозе 0,2 г/кг массы рыб (20 мг/кг по д. в.) в течение 3-х дней весной при температуре воды не менее 15 - 16°C только в стационарно неблагополучных хозяйствах. Это позволит облегчить течение и свести к минимуму летнее обострение болезни.

В рыбхозе «Новомичуринский» для лечения флексибактериоза молоди форели и сибирского осетра использовали несколько схем применения препарата. Достаточно высокую лечебную эффективность при флексибактериозе сеголеток форели показало 5-ти кратное использование Антибака 100 в дозе 0,5 г/кг массы рыб (50 мг/кг по д. в.). В опыте на мальках сибирского осетра наиболее высоким лечебным действием обладал Антибак 100 в дозе 1 г/кг массы рыб (0,1 г/кг по д. в.) 5-ти кратно в сочетании с обработкой Антибаком 250 в ваннах с концентрацией 20 г/м³ 5 дней подряд и в сочетании с 10-ти кратной обработкой хлорамином (60 г/м³), а также 10-ти кратное кормление тетрациклином в дозе 70 мг/кг в сочетании с такой же обработкой хлорамином. Но так как тетрациклин применялся в течение 10 дней подряд, то есть в 2 раза дольше, а также, учитывая его длительное использование в рыбководстве, что может приводить к селекции лекарственно устойчивых штаммов бактерий и, как следствие, снижению лечебной эффективности, то можно прийти к выводу, что применение Антибака будет более обоснованным.

Выше приведенные результаты подтверждены нами совместно с сотрудниками НВЦ «Агроветзащита» в 2005 – 2010 г. г. при широком применении Антибака 100 для лечения и профилактики аэромоноза карпов в рыбхозах Московской области («Клинский», «Нарские острова», «Осенка»), Ростовской области (рыбколхоз им. Абрамова), а также миксобактериозов стерляди, клариевого сома и других рыб (В.Г. Енгашев и др., 2005; К.В. Гаврилин и др., 2006; Г.Д. Поляков и др., 2006).

Лабораторные и производственные испытания показали, что наиболее удобно применять Антибак 100 методом групповой обработки рыб путем добавления препарата в гранулированные или тестообразные комбикорма. Растворимую форму – Антибак 500 следует использовать для обработки рыб в ваннах при миксобактериозах и псевдомонозе в сочетании с Антибаком 100, а также для лечения производителей, ремонтных групп карпов и особо ценных видов рыб путем внутривентральных инъекций.

Использование Антибака в благополучных по бактериальным болезням хозяйствах, также как и других лечебных антибактериальных препаратов, нежелательно, так как это неизбежно приводит к формированию резистентных форм возбудителей болезней рыб. Поэтому в благополучных рыбхозах возможно его применение с профилактической целью под контролем органов ветеринарной службы только в исключительных случаях – при непосредственной угрозе проникновения в них патогенных штаммов бактерий из неблагополучных хозяйств или водоемов.

Ципрофлоксацин, как и другие фторхинолоны, считается относительно малотоксичным соединением и хорошо переносится экспериментальными животными (Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев, 1998). В наших опытах средняя летальная доза составила для сеголеток карпа при пероральном введении ципрофлоксацина – 2417 мг/кг, при внутривентральном – 950 мг/кг массы рыб, а для мальков осетра при обработке в растворе - 350 мг/л. Максимально переносимые дозы превышали терапевтические в 20 – 100 раз и в 50 – 100 раз соответственно, что позволило отнести Антибак к 4-му классу токсичности веществ (малотоксичным). Исходя из этого, можно заключить, что Антибак обладает низкой токсичностью и в терапевтических дозах является безопасным для рыб.

III. ВЫВОДЫ

1. В стационарном неблагополучном по аэромонозу карпов рыбхозе «Клинский» заболеваемость рыб по разным прудам колебалась от 2 до 30 %, гибели рыб не отмечено. Заболевание протекало в основном хронически, только у единичных рыб отмечены признаки острого течения болезни. Основной причиной длительного неблагополучия хозяйства является не полное проведение оздоровительных мероприятий, в частности, применение мало эффективных лечебных препаратов.

2. Псевдомоноз карпов и флексибактериоз форели и осетра отмечены в виде спорадических вспышек. Псевдомоноз установлен в рыболовно-спортивном комплексе «Ромашково» у товарного карпа при температуре воды 12°C после завоза рыбы из неблагополучного рыбхоза. Заболеваемость и гибель составляла 11,1 %. Вспышки флексибактериоза наблюдались в стационарно неблагополучном рыбхозе «Новомичуринский» среди молоди форели ранней весной при температуре воды 10 – 12°C и сибирского осетра в мае-июне при температуре 20 - 25°C. Заболеваемость форели составляла около 2 %, осетров 2 – 8 % и сопровождалась частичной гибелью рыб.

3. В неблагополучных по аэромонозу прудовых хозяйствах нами изолирована смешанная микрофлора, из которой ведущее место занимали бактерии рода *Aeromonas*: вирулентные культуры *A. hydrophila*, *A. sobria*. В ассоциации с ними в разных соотношениях выделялись бактерии родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Flexibacter*, *Plesiomonas*, *Enterobacter*, осложняющие течение болезни.

4. Наиболее эффективным средством при аэромонозе, псевдомонозе и флексибактериозе оказались Антибак 100 и Антибак 500, действующим веществом которых является ципрофлоксацин. Минимальная подавляющая концентрация ципрофлоксацина для аэромонад составила 0,01 – 0,16 мкг/мл, для псевдомонод – 0,08 – 0,32 мкг/мл, для флексибактерий – 0,17 – 0,33 мкг/мл.

5. Фармакокинетика Антибака в организме рыб имеет ряд особенностей и в большой степени зависит от его формы и способов введения препаратов. При внутрибрюшинном введении и обработке в растворе максимальное количество ципрофлоксацина в крови и внутренних органах карпов обнаруживается через 1 – 3 часа, при пероральном введении – через 2 – 5 часов. Биодоступность Антибака 500 при внутрибрюшинном введении составляет 68 – 100 %, а Антибака 100 при пероральном введении – около 13 %.

6. Сроки выведения Антибака из организма карпов составили: при пероральном применении – 10 суток, при внутрибрюшинном – 7 суток, при перкутанном – 3 суток. Товарную рыбу следует допускать в пищу не ранее, чем через 7 – 10 дней после применения препаратов.

7. Оптимальные дозы, обеспечивающие лечебно-профилактический эффект, составили: для Антибака 100 50 – 100 мг/кг по д. в., для Антибака 500 при внутрибрюшинном введении – 5 – 10 мг/кг (по д. в.) массы рыб, а при осмотическом поступлении из водных растворов – 25 мг/л (по д. в.). Курс лечебно-профилактических обработок с лечебной целью составляет 5 суток, с профилактической – 3 суток.

8. В производственных условиях лечебно-профилактическая эффективность Антибака при аэромонозе карпов составила 66,1 – 100 %, а при флексибактериозе сибирского осетра - 81,2 – 100 %.

9. Антибак относится к группе малотоксичных для рыб веществ: ЛД₅₀ (по д. в.) при пероральном введении составляет для карпов 2417 мг/кг, при внутрибрюшинном введении – 950 мг/кг, ЛК₅₀ (по д. в.) при обработке осетров в растворе - 350 мг/л. Максимально переносимые дозы и концентрации превышают терапевтические в 20 – 100 раз. В терапевтических дозах он не вызывает патологических изменений в гематологическом статусе и гистологической структуре органов рыб.

IV. ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Материалы исследований использованы при составлении: Наставления по применению препарата Антибак при бактериальных болезнях рыб (утверждено Департаментом ветеринарии МСХ РФ 26.03.2004), Инструкций по применению Антибака 100 и Антибака 500 для лечения и профилактики болезней бактериальной этиологии товарных рыб (утверждены Россельхознадзором 20.02.2007), Рекомендаций по борьбе с аэромонозом, псевдомонозом и миксобактериозами рыб с использованием препаратов Антибак (одобрены Департаментом ветеринарии и животноводства МСХ РФ, 2007).

Результаты исследований используются в учебном процессе в ФГБОУ ВПО МГАВМиБ по дисциплине «Биология и патология рыб».

V. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ НАУЧНЫХ ВЫВОДОВ

1. Для лечения аэромоноза, псевдомоноза и флексибактериоза рекомендуется применять Антибак 100 методом групповой обработки путем добавления препарата в гранулированные или тестообразные корма в дозе 0,5 – 1 г/кг массы рыб в течение 3 – 5 дней подряд в зависимости от тяжести болезни, а для профилактики этих заболеваний – в дозе 0,2 г/кг массы рыб 3 дня подряд весной только в стационарно неблагополучных хозяйствах.

2. С целью индивидуальной обработки ремонтно-маточного стада и особо ценных видов рыб рекомендуется вводить Антибак 500 внутривентрально в дозах (по д. в.): для лечения аэромоноза рыб – 5 мг/кг, а для лечения псевдомоноза – 10 мг/кг массы рыб.

3. Для обработки рыб в ваннах при флексибактериозе и псевдомонозе рекомендуется применять раствор Антибака 500 в концентрации 20 - 25 г/м³ в сочетании со скармливанием Антибака 100 с комбикормом в дозе 0,5 – 1 г/кг массы рыб 5 дней подряд.

VI. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аксенов В.И., Ковалев В.А. Антибиотики в продуктах животноводства. М.: Колос, 1977. - С. 45 – 73.
2. Андросик Н.Н., Безнос Т.В., Скрипкина Л.В., Скурат Э.К., Сиволоцкая В.А. Рыба, как источник пищевых отравлений человека и животных, кишечных инфекций и гельминтозов // Ученые записки Витеб. гос. акад. вет. медицины. Витебск. – 1998. - Т. 34. - С. 101 – 102.
3. Афанасьев В.И. Аэромоноз рыб и меры борьбы с ним: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук / М., 1979.
4. Афанасьев В.И. Новые способы борьбы с основными заболеваниями рыб в хозяйствах Северного Кавказа // Рыбоводство и рыболовство. – 1973. - №4. - С. 14.
5. Афанасьев В.И., Сулейманян В.С. Дибиомицин с эсмолином – эффективное средство в борьбе с краснухой карпов // I Всесоюзный симпозиум по инфекционным болезням рыб. Тез. докл. – М., 1972. – С. 37 - 39.
6. Афанасьев В.И., Сулейманян В.С., Панасенко В.В. Аэромоноз растительноядных рыб // Сельские зори. - 1978. - №5. - С. 56.
7. Бабенко О.В., Оганесян Г.С. Опыт борьбы с аэромонозом карпа // Ветеринария. – 1997. - №7. – С. 14 – 15.
8. Беляков В.Д., Ряпис Л.А., Илюхин В.И. Псевдомонады и псевдомонозы // Монография. - М. Медицина, 1990. – 224 с.
9. Биргер М.О., Аврех В.В., Ведьмина Е.А. и др. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. – М.: Медицина, 1973. – 456 с.
10. Борисенко В.Ф. Свойства аэромонад и их значение в интенсивно эксплуатируемых рыбоводных прудах: Автореф. дис. ... канд. биол. Наук / М., 1991.

11. Борисова М.Н., Пичугина Т.Д., Завьялова Е.А., Дрошнев А.Е., Коломыщев С.А. Болезни рыб. Обзор эпизоотической ситуации за 2006 год // Ветеринарная жизнь. – 2007. - №14. – С. 2 – 3.
12. Бутко М.П., Радин И.Д., Лаврунова С.А. Серологические свойства и устойчивость аэромонад в органах и тканях рыб к физико-химическим факторам // Труды ВНИИВС, М., 1974. - т. 49. - С. 70 – 78.
13. Буш В., Далхофф А., Цайлер Х.Й. Настоящее и будущее хинолонов. Обзор лит. // Антибиотики и химиотерапия. – 1993. - №38 (2). – С. 3 – 8.
14. Виолин Б.В., Абрамов В.Е., Ковалев В.Ф. Химиотерапия при бактериальных и паразитарных болезнях // Ветеринария. – 2001. - №1. – С. 42 – 46.
15. Вовк Н.И. Адгезия бактерий к эритроцитам рыб // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов – 2. // Расширенные матер. Международной научно-практич. конф., Борок, 17 – 20 июля 2007 г. М.: Россельхозакадемия, 2007. – С. 12 - 13.
16. Воронин В.Н., Кузнецова Е.В. Использование лечебных и профилактических препаратов за рубежом и в России. Проблемы и их решение // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов. Тез. докл. Всероссийской науч.-практич. конф. М. – Россельхозакадемия. – 2003. – С. 21 – 22.
17. Вялова Г.П., Шкурина З.К. Псевдомоноз молоди лососевых на Малкинском рыболовном заводе Камчатки // Проблемы товарного выращивания лососевых рыб России. Сб. докл. Мурманск. – 1995. - С. 79 – 84.
18. Гаврилин К.В., Енгашев В.Г., Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И. Результаты научных исследований по препарату Антибак // Проблемы аквакультуры: Межвед. сб. науч. и науч.-метод. тр. / Московский зоопарк, 2005. – С. 133 – 134.

19. Гаркави Б.Л., Коростелева Л.А., Ляпкало Я.М., Звержановский М.И., Лысенко А.А. Псевдомоноз молоди толстолобиков и карпов в зимовальных прудах // Тр. Кубанского аграрн. ун-та, Краснодар. – 1991. - вып. 319 (347). - С. 33 – 37.
20. Голиков А.В., Скворцов В.Н., Семенова Н.В. Эффективность байтрила при инфекционных болезнях животных // Ветеринария. – 1994. - №1. – С. 29 – 30.
21. Головин П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н. Кадастр лечебных препаратов, используемых и апробированных в аквакультуре России и за рубежом. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2005. – С. 5.
22. Голодец Г.Г. Лабораторный практикум по физиологии рыб. – М.: Пищепромиздат, 1955. – 50 с.
23. Гончаров Г.Д. Серологическая диагностика как новое доказательство вирусной природы “краснухи” карповых // Рыбное хозяйство. – 1949. - №4. – С. 45.
24. Грищенко Л.И. Сравнительная патоморфология, вопросы патогенеза и диагностика токсикозов и некоторых инфекционных болезней рыб: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.02/МГАВМиБ. – М., 2004. – 34 с.
25. Грищенко Л.И., Акбаев М.Ш., Васильков Г.В. Болезни рыб и основы рыбоводства. – М.: Колос, 1999. – 456 с.
26. Грищенко Л.И., Енгашев В.Г., Юхименко Л.Н. Эффективность препаратов из группы фторхинолонов при бактериальных болезнях рыб // Ветеринария. - 2003. - №7. – С. 13 – 14.
27. Гусева Н.В., Головин П.П., Головина Н.А. Инфекция молоди осетровых рыб, вызванная *Flavobacterium johnsonae*-подобными бактериями // Аквакультура: Информ. Пакет. - 1998. - Вып. 2. - С. 1 - 8.
28. Гусева Н.В., Щелкунов И.С. Выделение *Flexibacter columnaris* после массовой гибели молоди карпа // Ветеринария. – 1999. - №12. – С. 17 – 20.

29. Далин М.В., Фиш Н.Г. Белковые токсины микробов. М.: Медицина, 1980. - 224 с.
30. Дмитриева В.С., Семенов С.М. Микробиологический контроль активности антибиотических препаратов. – М.: Медицина, 1965. – 364 с.
31. Догель В.А., Пешков М.А., Гусева Н.В. Бактериальные заболевания рыб. М., Л. – Пищепромиздат, 1939. – 112 с.
32. Енгашев В.Г., Дементьев В.Н. Лечение аэромоноза карпов кои // *Aqua animals*. – 2005. - №2. – С. 48 – 49.
33. Енгашев В.Г., Орлов В.Т., Просинюк В.И. Новое в борьбе с краснухой карпов // *Рыбное хозяйство*. - 2005. - №2. – С. 86.
34. Житенева Л.Д, Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. – Ростов н/Д: Кн. изд-во, 1989. – 112 с.
35. Запличникова Э.Н., небесихина Н.А. Этиологическая роль псевдомонад и аэромонад при заболеваниях растительноядных рыб // *Основные проблемы рыб. хоз-ва и охраны рыбохоз. водоемов Азов. бассейна. Сб. науч. тр.* – Ростов на Дону, 1996. - С. 215 – 220.
36. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. – 184 с.
37. Иренков И.П., Соколова Н.А., Борисова М.Н., Козаченко Н.Г., Пичугина Т.Д. Адгезивные антигены у аэромонад // *Ветеринария*. – 2001. - №2. – С. 24 – 25.
38. Калмыков М.В., Белоусов В.И. Эпизоотическая ситуация по заразным болезням рыб в Российской Федерации и мониторинг безопасности рыбы и рыбопродукции за 2008 год // *Проблемы ихтиопатологии в начале XXI века. Сб. науч. тр.* – С.-П., 2009. – Вып. 338. – С. 94 – 100.

39. Канаев А.И. Достижения и задачи ветеринарной науки в области ихтиопатологии // Бюлл. ВНИИ экспериментальной ветеринарии. – 1975. – Вып. 20. – С. 3 – 12.
40. Канаев А.И. Методика постановки биологической пробы в ихтиопатологии // Методика постановки биологической пробы в ихтиопатологии. Методы диагностики отравлений рыб в водоемах. ВАСХНИЛ, М. – 1971. – С. 3 – 11.
41. Киселев А.В., Зубаиров М.М., Котляров В.М., Власов Н.А., Бузун А.И., Стрижаков А.А., Шевченко А.А. Лечебно-профилактическая эффективность антибактериального препарата «Абактан» в производственных условиях // Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными и экзотическими болезнями животных. Матер. науч.-практич. конф. – Покров, 1998. – С. 389 – 390.
42. Климов А.А. Поиск новых лекарств с высоким потенциалом активности в индустриальном животноводстве // Главный зоотехник. – 2004. - №3. – С. 10 – 12.
43. Ковалев В.Ф., Сазонова Е.М., Выдуйкина А.П., Шаповалова Л.Р. Методы количественного определения фторхинолонов // Сб. науч. тр. Всерос. гос. НИИ контроля, стандартизации и сертификации вет. препаратов, 1996 - т. 60. - С. 72 – 74.
44. Контроль за применением химиопрепаратов в рыбоводстве / Л.М. Мирзоева // Рыбн. хоз-во. Сер. Рыбохоз. использ. внутр. водоемов / Зарубежный опыт: Экспресс-информация/ЦНИИТЭИРХ. – 1987. – Вып. 8. – С. 15 – 17.
45. Круглов С.А. Лечебно-профилактический препарат // Рыбоводство. – 1985. – Т. 5. – С. 8.
46. Куденцова Р.А., Юнчис О.Н., Воронин В.Н. Бактериальные заболевания лососевых, вызываемые *Flavobacterium psychrophilum* // Болезни гидробионтов в аквакультуре: Аналитич. и реф. информ., 2000. – Вып. 3. – С. 1 – 10.

47. Линник В.Я., Скурат Э.К., Безнос Т.В. К изучению влияния антибиотиков на воспроизводительную функцию карпов // Профилактика, лечение и диагностика инфекционных болезней рыб. Тез. докл., М., 1986. - С. 54 - 55.
48. Лобунцов К.А. Изучение свойств токсина *Achromobacter punctatum* // Доклады Всесоюз. АСХН, Колос, М., 1968. - С. 36 – 38.
49. Лобунцов К.А. Итоги и перспективы изучения бактериальных болезней рыб // Профилактика, лечение и диагностика инфекционных болезней рыб. Тез. докл., М., 1986. - С. 56 – 57.
50. Лобунцов К.А. Краснуха и “краснухоподобные” болезни рыб (этиология и дифференциальная диагностика) // Новые методы и опыт оздоровления рыбохозяйственных водоемов от заразных болезней рыб. М., 1974. - С. 70 – 74.
51. Лобунцов К.А. Характеристика бактерий, патогенных для рыб // Ветеринария. – 1970. - №8. – С. 111 – 112.
52. Лобунцов К.А., Грищенко Л.И., Енгашев В.Г., Соголовская Л.В. Септический псевдомоноз карпов и толстолобиков // Ветеринария. – 1971. - №5. – С. 58 – 59.
53. Лобунцов К.А., Рудиков Н.И. К вопросу об этиологии краснухи карпов // I Всесоюзный симпозиум по инфекционным болезням рыб. Тез. докл. – М., 1972. – С. 27 – 30.
54. Лобунцов К.А., Рудиков Н.И. Этиологическая структура краснухи карпа. Труды Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии. – 1979. - №49. – С. 146 – 153.
55. Лукьяненко В.И. Иммунология рыб: врожденный иммунитет. Моногр. – М.: Агропромиздат, 1989. – 271 с.
56. Лямкин Д.Н. Борьба с краснухой карпов // Ветеринария. – 1972. - №9. – С. 65 – 66.
57. Манжелий В.В. О выделении флуоресцирующих бактерий от лещей // Рыбное хозяйство. – 1969. - Вып. 7. – С. 34 – 37.

58. Маннапова Р.Т., Гребенькова И.В., Маннапов А.Г., Гимадеев Р.Х., Шагимурагов Р.Г. Изучение иммуностропных свойств нового препарата из класса фторхинолонов – политрил (опыты на телятах) // Науч. тр. БашНПВЛ. – Уфа, 2002. - С. 86 – 89.
59. Мочалкин В.П. Септический псевдомоноз в зимовальном комплексе рыбхоза «Сускан». Бюлл. Всесоюз. ин-та экспериментальной ветеринарии, М., 1981, вып. 41, с. 13 – 14.
60. Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А. и др. Лабораторный практикум по болезням рыб. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. – 296 с.
61. Мясоедов А.В. Сравнительная оценка химиотерапевтических средств при аэромонозе карпов: Автореф. дис.... канд. вет. наук: 16.00.03. / М., 1983. – 18 с.
62. Нечипоренко Ю.Д., Манжелий В.В. К вопросу патогенеза краснухи карпов // Рыбное хозяйство: респ. межвед. ... Высшая школа, 1963. – С. 13 – 119. 166.
63. Олейник Н.Н. Фармакологическое обоснование применения политрила в птицеводстве: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.04 / Урал. гос. акад. вет. медицины. Троицк, 2003.
64. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Пер. с англ. Под ред. Хоулта Дж., Крига Н. и др. – М.: Мир, 1997. – 800 с.
65. Осадчая Е.Ф. Выделение цитопатогенных агентов от карпов при острой форме краснухи // Ветеринария. - 1964. - №9. – С. 29 – 34.
66. Осадчая Е.Ф., Лигоцкая В.Н. О биологической пробе при краснухе карпов // Ветеринария. – 1971. - №6. – С. 104.
67. Павлович Г.М., Хотева Г.М. Эпизоотическая обстановка в рыбоводных хозяйствах Росрыбхоза и меры по ее улучшению // Эпизоотологический мониторинг в аквакультуре: Состояние и перспективы. Расширенные матер. Всероссийской науч.-практич. конференции-семинара. М. – Россельхозакадемия. – 2005. – С. 91 – 94.

68. Падейская Е.Н. Новое в проблеме фторхинолонов: возможности повышения активности и расширения спектра. Обзор лит. // Антибиотики и химиотерапия. – 1994. – 39(5). – С. 52 – 65.
69. Падейская Е.Н. Фторхинолоны в лечении инфекционных заболеваний: альтернатива антибиотикам широкого спектра действия // В мире лекарств. – 1998. - №1. – С. 50 – 56.
70. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. // Фторхинолоны. – М., «Биоинформ», 1995. - 208 с.
71. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике. – М., Логата, 1998. - 351 с.
72. Подзорова А.А. Аэромоноз рыба // Основные проблемы рыб. хоз-ва и охраны рыбохоз. водоемов Азово-Черномор. бассейна. – Ростов на Дону, 1997 (1998). Сб. науч. тр. - С. 416 – 419.
73. Покровский В.И., Поздеев О.К., Байчурина А.З., Григорьев В.Е. и др. Медицинская микробиология. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 1200 с.
74. Присяная В.В. Бактериальная флора при заболевании карпов краснухой и лещей краснухоподобной болезнью // I Всесоюзный симпозиум по инфекционным болезням рыб. Тез. докл. – М., 1972. – С. 34 - 35.
75. Присяная В.В., Наконечная М.Г., Головян Л.В. Миксобактериоз форели, выращиваемой в бассейнах Киевской ТЭЦ-5 // Освоение теплых вод энергетических объектов для интенсивного рыбоводства. Матер. науч. конф. Киев, 1978. - С. 263 – 265.
76. Присяная В.В., Хуторной П.М. Изменение чувствительности микрофлоры больных рыб при лечении их антибиотиками // Рыбное хозяйство. – 1979. – Вып. 28. – С. 84 – 87.
77. Присяная В.В., Хуторной П.М. К вопросу идентификации аэромонад, выделенных от здоровых и больных краснухой рыб // Рыбное хозяйство. - 1983. - Вып. 36. - С. 60 – 62.

78. Просяная В.В., Хуторной П.М. Условно патогенные бактерии и их роль в патогенезе некоторых болезней прудовых рыб // Рыбное хозяйство. – 1975. – Вып. 21. – С. 108 – 111.
79. Просяная В.В., Хуторной П.М. Чувствительность к антибиотикам бактериальной флоры при краснухе карпов // Ветеринария. – 1978. - №8. – С. 49 – 50.
80. Радин И.Д. Чувствительность бактерий *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Escherichia* к некоторым антибиотикам // I Всесоюзный симпозиум по инфекционным болезням рыб. Тез. докл. – М., 1972. – С. 80 - 81.
81. Рубан Е.Л. Физиология и биохимия представителей рода *Pseudomonas*. – М.: Наука, 1986. – 200 с.
82. Рудиков Н.И. Весенняя вирусная болезнь рыб // Ветеринария. - 1975. - №6. – С. 64 – 66.
83. Сазонова Е.М., Виолин Б.В., Ковалев В.Ф., Филатова О.И., Лобова П.С. Фармакокинетика энрофлоксацина в организме поросят после применения энрофлона // Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными и экзотическими болезнями животных. Матер. науч.-практич. конф. – Покров, 1998. – С. 285 – 287.
84. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. – М.: Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998. – Вып. 1. – 310 с.
85. Севян Т.К. Оксациллин в организме карпов // Тр. Ерев. зоовет. ин-та, 1981. - Вып. 51. - С. 118 – 122.
86. Севян Т.К. Чувствительность *Aeromonas punctata* к антибиотикам // Ветеринария. – 1976. - №7. – С. 112.
87. Сидоренко С.В., Резван С.П., Макарова А.Н. и др. Механизмы устойчивости к хинолонам и современный уровень чувствительности клинически значимых микроорганизмов к офлоксацину // Антибиотики и химиотерапия. – 1996. – 41(9). – С. 33 – 38.

88. Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.Б. Определитель зоопатогенных микроорганизмов. – М.: Колос, 1995. – 319 с.
89. Синев А.В., Худов А.М., Иванова Г.М., Гуляев А.И. Краснуха толстолобиков // Ветеринария. - 1974. - №7. – С. 59 – 60.
90. Скурат Э.К., Гребнева Е.И. Аэромоноз и псевдомоноз карпа и меры борьбы с ним // Вопр. рыб. хоз-ва Беларуси, Минск. – 1994. - Вып. 12. - С. 127 – 134.
91. Скурат Э.К., Дегтярик С.М., Асадчая Р.Л., Сиволоцкая В.А., Бенецкая Н.А., Говор Т.А. Новый антибиотик для профилактики и лечения аэромоноза рыб // Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности: Матер. междунар. науч.-практич. конф. Сб. науч. тр. Т. 1. – М., 2005. - С. 336 – 338.
92. Скурат Э.К., Сиволоцкая В.А., Говор Т.А., Гребнева Е.И. Биологический метод профилактики аэромоноза карпа // Вопр. рыб. хоз-ва Беларуси, Минск. – 1995. - Вып. 13. - С. 194 – 198.
93. Скурат Э.К., Сиволоцкая В.А., Гребнева Е.И., Говор Т.А. Новые антибиотики для профилактики и лечения аэромонозов карпов в прудовых хозяйствах // Вопр. рыб. хоз-ва Беларуси, Минск. – 1996. - Вып. 14. - С. 101 – 104.
94. Слынько Л.И., Силко В.В., Хотева Г.М. Определение патогенности возбудителей аэромоноза карпов методом биопробы и применением ДНК-азного агара // Профилактика, лечение и диагностика инфекционных болезней рыб. Тез. докл., М. – 1986. - С. 97 - 99.
95. Современная микробиология. Прокариоты. Под ред. Ленгелера Й., Дрекса Г., Шлегеля Г. Пер. с англ. – М.: Мир, 2005. – Т. 2. – С. 351 – 352.
96. Соколова Н.А., Иренков И.П., Борисова М.Н., Пичугина Т.Д. К вопросу о факторах патогенности аэромонад // Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре: Сб. докл. научно-практич. конф. – М.: Россельхозакадемия, 2000. – С. 118.

97. Сухенко Г.Е. Применение антибиотиков при краснухе карпов // Ветеринария. – 1974. - №7. – С. 60 – 62.
98. Тец В.И., Яковлева Г.С. Получение культуры тканей карпа и ее применение при изучении этиологии краснухи рыб. – Научно-технический бюллетень ГосНИОРХа - 1962. - №15. – С. 73 – 77.
99. Фадеева Н.И., Шульгина М.В., Глушков Р.Г. Молекулярно-биологические особенности антибактериального действия производных 4-хинолон-3-карбоновой кислоты. Обзор лит. // Химико-фармацевтич. журн. – 1993. - №5. – С. 5 – 19.
100. Федорченко Л.С. Поиски активных антибиотиков против флуоресцирующих бактерий // Рыбное хозяйство. – 1968. – Вып. 6. – С. 139 – 143.
101. Хайтович А.Б., Ведьмина Е.А., Власова И.В. Чувствительность к антибиотикам вибрионов и аэромонад // Антибиотики и химиотерапия. – 1992. – Т. 37. - №3. – С. 10 – 13.
102. Шакарян Г.А., Севян Т.К. Чувствительность возбудителей инфекционных болезней рыб к антибиотикам // Ветеринария. – 1983. - №4. – С. 62.
103. Шакарян Г.А., Севян Т.К., Меликян А.А. Диклоксациллин в организме карпов // Ветеринария. – 1981. - №10. – С. 61.
104. Шакарян Г.А., Севян Т.К., Меликян А.А. Кинетика метациклина в организме рыб // Ветеринария. – 1981. - №5. – С. 60.
105. Шимко В.В., Широгорова Л.Н. Адгезивные свойства аэромонад, выделенных от больных рыб // Вет. наука – производству: Межвед. сб. – Минск, 1991, вып. 29, с. 74 – 76.
106. Щербина А.К. Краснуха или геморрагическая септицемия карпа и меры борьбы с ней. М. – Л. – Пищепромиздат, 1939. – 52 с.
107. Щербина А.К. Оценка эффективности методов борьбы с краснухой карпов // I Всесоюзный симпозиум по инфекционным болезням рыб. Тез. докл. – М., 1972. – С. 25 – 27.

108. Эпштейн Г.В., Пешков М.А. Краснуха прудовых рыб // Рукопись. – 1934 (Цит. по: Щербина, 1939).
109. Юхименко Л.Н. Бактериальная геморрагическая септицемия рыб, вызываемая подвижными аэромонадами и ее профилактика. Аквакультура и здоровье рыб // Первый российско-американский симпозиум: Тез. докл. – М., 1998. – С. 179 – 180.
110. Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И. Этиологическая структура возбудителей бактериальной геморрагической септицемии рыб // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов – 2. // Расширенные матер. Международной научно-практич. конф., Борок, 17 – 20 июля 2007 г. М.: Россельхозакадемия, 2007. – С. 95 – 97.
111. Юхименко Л.Н., Викторова В.Ф. Аэромонады рыб: Обзор зарубежной литературы. Сб. науч. тр. / ВНИИ пруд. рыбного хоз-ва. М., 1979, вып. 23, С. 37 – 55.
112. Юхименко Л.Н., Койдан Г.С. Современное состояние проблемы аэромоноза рыб // Экспресс-информация ВНИИЭРХ. Сер. Аквакультура. – М.: ВНИИЭРХ, 1997. – Вып. 2. – С. 1 – 5.
113. Юхименко Л.Н., Койдан Г.С., Борисенко В.Ф., Головин П.П., Бычкова Л.И. Эпизоотическая значимость *Pseudomonas fluorescens* v. *capsulata*. Аквакультура: Информ. Пакет. 1998, вып. 2, М., с. 8 - 13.
114. Юхименко Л.Н., Койдан Г.С., Бычкова Л.И., Смирнов Л.П. Биологические свойства аэромонад и их роль в патологии рыб // Болезни гидробионтов в аквакультуре. – 2001. – Вып. 1. – С. 1 – 10.
115. Яковлев В.П. Фармакокинетика фторхинолонов // Антибиотики и химиотерапия. – 1993. – Т. 38. – №6. – С. 66 – 78.
116. Яковлев С.В. Новое поколение фторхинолонов – новые возможности лечения внебольничных инфекций дыхательных путей // Антибиотики и химиотерапия. – 2001. - №6.- С. 38 – 42.

117. Яременко Н.А., Мачнев А.Н. Эпизоотическая обстановка по заразным болезням рыб в Российской Федерации // Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре. Тезисы науч.-практич. конф. М. - Россельхозакадемия – 2000. – С. 10 – 13.
118. Яременко Н.А., Селиверстов В.В. Анализ эпизоотической обстановки по заразным болезням рыб в Российской Федерации по итогам 2002 г. // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов. Тез. докл. Всероссийской науч.-практич. конф. М. – Россельхозакадемия. – 2003. – С. 143 – 145.
119. Ярошевич К.О. Ассоциативное проявление ботриоцефалеза и аэромоноза в индустриальном рыбоводстве: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19, 16.00.03 / Нижегород. гос. с.-х. академия. – Н. Новгород, 2003.
120. Acosta B., Pérez de León A., Gobernado M., Camañas A. *Aeromonas* spp. Aisladas de heces humanas Especie y factores de patogenicidad // *Enferm. infecc. y microbial. clin.* – 1991. – Vol. 9. - №6. – P. 329 – 334.
121. Ajmal M., Hobbs B.C. Columnaris disease in roach and perch from English waters // *Nature.* – London. – 1967. – Vol. 215. - №5097. – P. 141 – 142.
122. Andziak J., Anusz Z., Jakubczak A. Ocena chorobotwórczości *Aeromonas hydrophila* izolowanych od ryb na terenie województwa olsztyńskiego // *Med. wet.* – 1992. – Vol. 48. - №2. – P. 54 – 56.
123. Ansary A., Haneef R.M., Torres J.L., Yadav M. Plasmids and antibiotic resistance in *Aeromonas hydrophila* isolated in Malaysia from healthy and diseased fish // *J. Fish Diseases.* – 1992. – Vol. 15. - №2. – P. 191 – 196.
124. Aoki T., Egusa S. Detection of rhesus factors in the fish pathogen *A. ligulifaciens* // *Journal of General Microbiol.* – 1971. - №65. – P. 343 – 349.
125. Aoki T., Egusa S., Watanabe T. Drug-resistance and R.factors related to fish culturing // *Jap. J. Bacteriol.* – 1972. – Vol. 27. - №6.
126. Asahi Y., Ishizak T. Recent advances in structure-activity relationships in new quinolones // *Progr. Drug. Res.* – 1992. - №38. – P. 51 – 102.

127. Austin B. Bacterial fish diseases: [Pap.] 20 th Triennial Conf. Inst. Med. Lab. Sci., Liverpool, 5 – 12 Sept., 1992 // Med. Lab. Sci. – 1992. – Vol. 49. - №3. – P. 196.
128. Austin B. The control of bacterial fish diseases by antimicrobial compounds // Antimicrobials in aquaculture. Woodbine M (ed.), Butterworths, London. – 1984. – P. 255 – 268.
129. Baloda S.B., Krovacek K., Eriksson L., Linné T., Mansson I. Detection of aerolysin gene in *Aeromonas* strains isolated from drinkind water, fish and foods by the polymerase chain reaction // Compar. Immunol., Microbiol. and Infect. Diseases. – 1995. – Vol. 18. - №1. – P. 17 – 26.
130. Bergan T. Human and animal pathogenic members of the genus *Pseudomonas* // Prokariotes. - 1981. - V. 1. - P.666 - 700.
131. Bernardet J.F., Campbell A.C., Buswell J.A. *Flexibacter maritimus* is the agent of “black patch necrosis” in Dover sole in Scotland // Dis. Aquat. Org. – 1990. – Vol. 8. - №3. – P. 233 – 237.
132. Bernardet J.F., Segers P., Vancanneyt M., Berthe F., Kersters K., Vandamme P. Cutting a Gordian knot: emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family Flavobacteriaceae, and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (Basonuym, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tait 1978) // Intern. J. Syst. Bacteriol. – 1996. – Vol. 46. - №1. – P. 128 – 148.
133. Bootsma R. An outbreak of carp (*Cyprinus carpio* L.) Erythrodermatitis caused by a myxobactericum // Aquaculture. – 1973. - №2. – P. 317 – 320.
134. Borg A.F. Studies on myxobacteria associated with diseases in salmonid fishes // Wildlife Disease. – 1960. - №8. – P. 1 – 85.
135. Borrel N., Acinas S.G., Figueras M.J., Martinez-Murcia A.J. Identification of *Aeromonas* clinical isolates by restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified 16S rRNA gene // J. Clin. Microbiol. – 1997. - №35. – P. 1671 – 1674.

136. Boulanger U., Lallier R., Cousineau G. Isolation of enterotoxigenic *Aeromonas* from fish. // *Can. J. Microbiol.* - 1977. - №23(9). - P. 1161 - 1164.
137. Bowser P.R. a.o. Experimental treatment of *Aeromonas salmonicida* infection with enrofloxacin and oxolinic acid: field trials // *J. Aquat. Anim. Health.* - 1990. - Vol. 2. - №3. - P. 198 - 203.
138. Brunner G. Die Fluorescens-Epidemie der Carpfen in Lichte neuerer Bauchwassersucht - Forschungen // *Fischerei Ztg.* - 1953. - Vol. 78. - №18.
139. Bruum M.S. et al. Antimicrobial resistance patterns in Danish isolates of *Flavobacterium psychrophilum* // *Abstr. 9 th Intern. Conf. "Disease of Fish and Shell-fish"*, Rhodes. - 1999. - P. 238.
140. Brysker A., Chantot J.-F. Classification and structure-activity relationships of fluoroquinolones // *Drugs.* - 1995. - Vol. 49. - №2. - P. 16 - 28.
141. Bullock G.L. Studies on selected myxobacteria pathogenic for fishes and on bacterial gill disease in hatchery - reared salmonids // *U. S. Dep. Interior, Fish & Wildlife Serv., Washington, techn. Pap.* - 1972. - №60. - 30 p.
142. Bullock G.L., Conroy D.A., Sniezko S.F. Bacterial diseases of fishes // *S. T.* - 1971. - Book 2a. - P. 151.
143. Buza L. A fertőző hasvízkók oktanak megelőzése - senék és gyógykezelésének tanulmányozása // *Szarvas, Haltenyésztési Kutató Intézet.* - 1975. - P. 18 - 49.
144. Carnahan A.M., Chakraborty T., Fanning G.R., Verma D., Ali A., Janda J.M., Joseph S.W.: *Aeromonas trota* sp. nov., an ampicillin-susceptible species isolated from clinical specimens // *J. Clin. Microbiol.* - 1991. - №29. - P. 1206 - 1210.
145. Carnahan A.M., Fanning G.R., Joseph S.W.: *Aeromonas jandaei* (formerly *genospecies DNA group 9 A. sobria*), a new sucrose-negative species isolated from clinical specimens // *J. Clin. Microbiol.* - 1991. - №29. - P. 560 - 564.

146. Carnahan A.M., Joseph S.W. Systematic assessment of geographically and clinically diverse aeromonads // *Syst. and Appl. Microbiol.* – 1993. – 16, №1. – C. 72 – 84.
147. Carson J., Schmidtke L.M., Munday B.L. *Cytophaga johnsonae*: a putative skin pathogen of juvenile farmed barramundi, *Lates calcarifer* Bloch. // *J. Fish Dis.* – 1993. – Vol. 16. - №3. – P. 209 – 218.
148. Castro-Escarpulli G., Figueras M.J., Aguilera-Arreola G., Soler L., Fernández-Rendón E., Aparicio G.O., Guarro J., Chacón M.R. Characterisation *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico // *International Journal of Food Microbiology.* – 2003. - №84. – P. 41 – 49.
149. Chowdhury M.B.R., Wakabayashi H. A study on *Flexibacter columnaris* infection in loach, *Misgurnus anguillicaudatus* (Bleeker, Günther) // *J. Fish Diseases.* – 1991. – Vol. 14. - №3. – P. 389 – 394.
150. Chu D.T.W., Fernandes P.B. Structure-activity relationships of the fluoroquinolones // *Antimicrob. Ag. Chemother.* – 1989. - №33. – P. 131 – 135.
151. Csaba J., Prigli M., Kovacs-Gayer E., Bekesi L., Bajmocy E., Fazekas B. Septicemia in silver carp (*Hypophthalmichthys Molitrix* V.) and bighead carp (*Aristichthys Nobilis* R.) caused by *Pseudomonas fluorescens* // *Symp. Biol. Hung.* – 1984. - №23. – P. 75 – 84.
152. Culshaw K.D., Tillotson G.S. Ciprofloxacin susceptibility patterns – 4 years experience in the UK // 5 th Eur. Congr. Clin. Microbiol. and Infect. Diseases, Oslo, 9 – 11 Sept., 1991: Abstr. – Oslo. – 1991. – P. 63.
153. De Figueiredo J., Plumb J. Virulence of different isolates of *Aeromonas hydrophila* in channal catfish // *Aquaculture.* - 1977. - №11. – P. 349 – 354.
154. Dombrowski H. Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen zwischen *Pseudomonas punctata* (Zimmerman) und *Pseudomonas fluorescens* (Flügge) sowie deren vorkommen in der Natur. *Bild. // Lbl.* – 1953. – Vol. 72. - №9 – 10. – P. 449 – 464.

155. Dombrowski H.: Haematologisch – nosologische Studien an bauchwassersucherkranken Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) // *Biol. Zbl.* – 1953. - №72. - P. 353 – 363.
156. Drilca K., Zhao X. DNA-Gyrase, topoisomerase IV, and 4-quinolones // *Microbiol, Molecular Biology Rev.* – 1997. – Vol. 61. - №3. – P. 377 – 392.
157. Efuntoye M.O. Diarrhoea disease in livestock associated with *Aeromonas hydrophila* biotype 1 // *J. Gen. and Appl. Microbiol.* – 1995. – Vol. 41. – №6. – P. 517 – 521.
158. Esposito S., Noviello S. In vitro and in vivo bacterial resistance to quinolones // 5 th Eur. Congr. Clin. Microbiol. and Infect. Diseases, Oslo, 9 – 11 Sept., 1991: Abstr. – Oslo. – 1991. – P. 191.
159. Esteve C., Valera L., Gutiérrez C., Ventosa A.: Taxonomic study of sucrose-positive *Aeromonas jandaei*-like isolates from faeces, water and eels: emendation of *A. jandaei* Carnahan et al. 1992 // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2003. - №53. – P. 1411 – 1419.
160. Farkas J., Olah J. Gill necrosis – a complex disease of carp // *Aquaculture.* – 1986. – Vol. 58. - №1. – P. 17 – 26.
161. Figueras M.J., Soler L., Chacón M.R., Guarro J., Martínez-Murcia A.J. Extended method for discrimination of *Aeromonas* spp. by 16S rDNA-RFLP analysis // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2000. - №50. – P. 2069 – 2073.
162. Fijan N., Petrinc Z., Sulimanovič D., Zwillenberg L.O. Isolation of the viral causative agent from acute form in infections dropsy of carp // *Vet. Arkiv.* – 1971. - Vol. 41. - P. 125 – 138.
163. Fryer J.L., Pilcher K.S. Effect of temperature on diseases of Salmonid fishes // EPA Report 660/3-73-020. – 1974. – 112 p.
164. Ghittino P. Eziologie e lesioni anatomo-patologiche della malattia branchiale (MB) delle trotelline in Italia // *Riv. ital. Piscicoltura. Ittiopatol.* – 1967. - Vol. 2. - №2. – P. 24 – 29.

165. Ghittino P. Mortalita massiva per Mallatia Branchiale Batterica (MBB) in cieche d'anguilla europea (*Anguilla anguilla*) // Riv. ital. Piscicolt. Ittiopatol. – 1972. – Vol. 7. - №4. – P. 83 – 85.
166. Ghittino P. Note su due ammoni quaternari nel trattamento della malattia branchiale batterica delle troteline d'allevamento // Riv. ital. Piscicolt. Ittiopatol. – 1970. – Vol. 5. - №4. – P. 97 – 99.
167. Green C.E., Budsberg S.C. Veterinary use of quinolones // Quinolone Antimicrobial Agents, 2 nd ed., Eds. Hooper D.C., Wolfson J.S. Washington. – 1993. – P. 473 – 480.
168. Grondel J.L., Boesten J.A.M. The influence of antibiotics on the immune system. Inhibition of the mitogenic leukocyte response in vitro by oxytetracycline // Develop. Comp. Immunol. – 1982. - №2. – P. 211 – 216.
169. Grondel J.L., Nouws J.F.M., Muiswinkel W.B. van. The influence of antibiotics on the immune system IV Immuno-pharmacokinetic investigations on the primary anti-SRBC response in carp (*Cyprinus carpio*) after oxytetracycline injection // J. Fish Diseases. – 1987. - №10. – P. 35 – 44.
170. Guz L., Kozinska A. Antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* and *A. sobria* isolated from farmed carp (*Cyprinus carpio* L.) // Bull.Veter. Inst. in Pulawy. – 2004. – Vol. 48. - №4. – P. 391 – 395.
171. Guz L., Kozinska A. Antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* and *A. sobria* isolated from farmed carp (*Cyprinus carpio* L.) // Bull. Veter. Inst. In Pulawy. – 2004. – Vol. 48. - №4. – P. 391 – 395.
172. Herbst u.a. Gegenwärtige Resistenzlage fischpathogener Bakterien gegenüber einigen antibiotischen Wirkstoffen in Einsatz bei Nutz – und Zierfischen in Niedersachsen // Fischer und Teichwirt. – 1989. - №2. – P. 42 – 47.
173. Hettiarachchi D.C., Cheong C.H. Some characteristics of *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio* species isolated from bacterial disease outbreaks in ornamental fish culture in Sri Lanka // J. Nat. Sci. Counc. Sri Lanka. – 1994. – Vol. 22. - №3. – P. 261 – 269.

174. Hickman-Brenner F.W., MacDonald K.L., Steigerwalt A.G., Fanning G.R., Brenner D.J. and Farmer III J.J. *Aeromonas veronii*, a new ornithine decarboxylase-positive species that may cause diarrhea // *J. Clin. Microbiol.*, 1987. - №25. – P. 900 – 906.
175. Hine P.M. Diseases in cultured species // *Fish Res. Div., Occasional Publication.* – 1975. - №7. – P. 15 – 20.
176. Holt R.A., Rohovec J.S., Frayer J.L. Bacterial cold – water disease // V. Inglis, R.J. Roberts, N.R. Bromage (editors). *Bacterial disease in fish.* Black. – Sci. Publ. Oxford. – 1993. – P. 3 – 22.
177. Hooper D.C., Wolfson J.S. Mechanism of quinolone action and bacterial killing // *Quinolone antimicrobial Agents*, 2 nd ed., Eds. Hooper D.C., Wolfson J.S. Washington. – 1993. – P. 53 – 75.
178. Hoshino K., Sato K., Akahane R. et al. Significance of the methyl group of oxazine ring ofloxacin derivatives in the inhibition of bacterial and mammalian type II topoisomerases // *Antimicrob. Chemother.* – 1991. - №35. – P. 309 – 312.
179. Hoshino K., Sato K., Une T. et al. Inhibitory effect of quinolones on DNA of *Escherichia coli* topoisomerases II of fetal calf thymus // *Ibid.* – 1989. - №33. – P. 1816 – 1818.
180. Huys G., Denys R., Swings J.: DNA – DNA reassociation and phenotypic data indicate synonymy between *Aeromonas enteropelogenes* Schubert et al.1990 and *Aeromonas trota* Carnahan et al. 1991 // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* - 2002. - №52. – P. 1969 – 1972.
181. Jakubczak A., Anusz Z., Bernad A. Występowanie oraz wrażliwość na wybrane chemioterapeutyki szczepów *Aeromonas hydrophila* izolowanych od ryb na terenie województwa olsztyńskiego // *Med. Wet.* – 1992. – Vol. 48. - №1. – P. 18 – 20.
182. Kämpfer P., Christmann C., Swings J., Huys G. In vitro susceptibilities of *Aeromonas* genomic species to 69 antimicrobial agents // *Syst. Appl. Microbiol.* – 1999. - №22. – P. 662 – 669.

183. Krovacek K., Faris A., Baloda S.B., Peterz M., Lindberg T., Mansson I. Prevalence and characterization of *Aeromonas* spp. isolated from foods in Uppsala, Sweden // *Food Microbiol.* - 1992. - №9. – P. 29 – 36.
184. Kuwabata T. Современное положение и проблемы, связанные с лечебными препаратами для рыб // *Модан медиа.* – 1980. – Т. 26. – С. 306 – 315.
185. Leung K.Y. a. o. Morphological changes in carp epithelial cells infected with *Aeromonas hydrophila* // *J. Fish Diseases.* – 1996. – Vol. 19. - №2. – P. 167 – 174.
186. Lewbart G., Vaden S., Deen J., Manaugh C., Whitt D., Doi A., Smith T., Flammer K. Pharmacokinetics of enrofloxacin in the red pacu (*Colossoma brachypomum*) after intramuscular, oral and bath administration // *J. of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* – 1997. – Vol. 20. - №2. – P. 124.
187. Lietman P.S. Fluoroquinolone toxicities. An update // *Drugs.* – 1995. - №49. – P. 159 – 163.
188. Lumsden J.S., Ostland V.E., Ferguson H.W. Necrotic myositis in cage cultured rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), caused by *Flexibacter psychrophilus* // *J. Fish Diseases.* – 1996. – Vol. 19. - №2. – P. 113 – 119.
189. Mac-Carthy D.N. Some ecological aspects of bacterial fish pathogen *Aeromonas salmonicida* // *Aquat. Microbiol.* – 1977. - P. 299 – 324.
190. Mann H. Serologische Untersuchungen an mit ansteckender Bauchwassersucht befallenen Karpfen // *Z. Fischerei.* – 1939. - №37. P. 10 – 126.
191. Mano S.B., Ordoez J.A., Garcia de Fernando G.D. Growth / survival of natural flora and *Aeromonas hydrophila* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged in modified atmospheres // *Food Microbiol.*, 2000. - №17. – P. 657 – 669.

192. Mateos D., Anguita J., Naharro G., Paniagua C. Influence of growth temperature on the production of extracellular virulence factors and pathogenicity of environmental and human strains of *Aeromonas hydrophila* // *J. Appl. Bacteriol.*, 1993. - №74. – P. 111 – 118.
193. Merino S., Rubires X., Knochel S., Tomás J.M. Emerging pathogens: *Aeromonas* spp. // *Int. J. Food Microbiol.*, 1995. - №28. – P. 157 – 168.
194. Meunier F.J. Etude experimentale de l'excretion de la tetracycline chez la carpe, *Cyprinus carpio* L. (Cyprinidae, Teleosteen). Resultats preliminaries // *Cybiurn.* – 1982. – Vol. 6. - №1. – P. 53 – 64.
195. Meyer F.P. Solutions to the shortage of approved fish therapeutants // *J. Aquat. Anim. Health.* – 1989. – Vol. 1. – №1. – P. 78 – 80.
196. Meyer P. A review of the parasites and diseases of fishes in warm-water ponds in North America U.S. // Department of the interior Fish-Farming Experimental station stuttgart Arkansas, U.S.A. – Rome. – 1966. – P. 63.
197. Moellering R.C. Antibiotic resistance: Lessons for the future: Pap. Symp. Bact. Resist.: Lab. Explan. and Clin. Conseq., Surrey, 15 – 17 Apr., 1996 // *Clin. Infec. Diseases.* – 1998. – Vol. 27. - №1. – P. 135 – 140.
198. Moellering R.C. Overview of newer quinolones // Levofloxacin. Symp. 19th Intern. Congr. Chemother., Montreal. – 1995. – P. 45 – 58.
199. Morrison C., Cornick J., Shum G., Zwicker B. Microbiology and hysthopatology of “saddleback” disease of underyarling Atlantic salmon, *Salmo salar* L. // *J. Fish. Dis.* – 1981. – Vol. 4. - №3. – P. 243 – 258.
200. Nair G.B., Holmes B.: International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the taxonomy of Vibrionaceae // Minutes of the meetings, 17 August 1999, Sydney, Australia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2002. - №52. – P. 2331 – 2333.
201. Noga E.J. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. – St. Louis: Mosby – Year Book Inc.: USA. – 1995. – 321 p.

202. Nouws J.F.M., Grondel J.L., Schutte A.R., Laurensen J. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in carp, African catfish and rainbow trout // *The Veterinary Quarterly*. – 1988. – Vol. 10. - №3. – P. 211 – 216.
203. Ostland V.E., McGrogan D.I., Ferguson H.W. Cephalic osteochondritis and necrotic scleritis in intensively reared salmonids associated with *Flexibacter psychrophilus* // *J. Fish Diseases*. – 1997. – Vol. 20. - №6. – P. 443 – 451.
204. Pacha R.E., Ordal E.J. Myxobacterial diseases of salmonids // *Symp. on Diseases of Fish and Shellfish. Amer. Fish. Soc., spec. Publ.* – 1970. – P. 243 – 257.
205. Pacha R.E., Porter S. Characteristics of myxobacteria isolated from the surface of fresh water fish // *Appl. Microb.* – 1968. - №16. – P. 1901 – 1906.
206. Palmer R., Kawai K., Kusuda R. In vitro activity of quinolone antibacterials against selected fish pathogens // *Cyobyō Kenkyū = Fish Pathol.* – 1992. – Vol. 27. - №3. – P. 131 – 142.
207. Petrinc Z. et al. *Ribar Jugosl.* 1983. – Vol. 38. - №3. – P. 58.
208. Piddock L.J.V. Mechanisms of resistance – how are quinolones affected // *Resistance to Antimicrobial Agents, Monaco.* – 1997. – Abstracts: №027.
209. Piddock L.J.V. Mechanisms of resistance to fluoroquinolones: state-of-the-art 1992 – 1994 // *Drugs*. – 1995. – Vol. 49. - №2. – P. 29 – 35.
210. Piddock L.J.V., Hall M.C., Wise R. Mechanism of action of lomefloxacin // *Antimicrob. Ag. Chemother.* – 1990. - №34. – P. 1088 – 1093.
211. Plehn M. *Bacterium cyprinica nov. spec., der Erreger der Rotseuche* *Zbl. Bakt. Paras. – Kde. Inf. – Kr. Hyg. I. Abt. Orig.* 35 (1904). S. 461 – 467.
212. *Quinolone Antimicrob. Agents 2 nd ed.*, Eds. Hooper D.C., Wolfson J.S., Washington. – 1993. – 549 p.
213. Rijkers G. The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio* L.) // *Aquaculture*. – 1980. – Vol. 19. - №2. – P. 177 – 189.

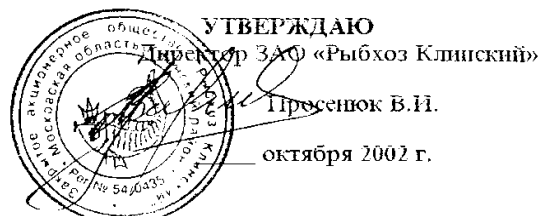
214. Rintamaki-Kinnunen, Bernardet J.F., Bloigu A. Yellow pigmented filamentous bacteria connected with farmed salmonid fish mortality // *Aquaculture*. – 1997. – Vol. 149. - №1. – P. 1 – 14.
215. Saavedra M.J., Figueras M.J., Martínez-Murcia A.J.: Updated phylogeny of the genus *Aeromonas*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2006. - №56. – P. 2481 – 2487.
216. Sato K., Hoshino K., Une T. et al. Inhibitory effect of ofloxacin on DNA gyrase of *Escherichia coli* and topoisomerase II of bovin calf thymus // *Rev. Inf. Dis.* – 1989. – Vol. 11. - №5. – P. 915 – 916.
217. Schäperclaus W. Etiology infectious carp dropsy // *Ann. N. V. Acad. Sci.* – 1965. – Vol. 126. - №1. – P. 587 – 597.
218. Schäperclaus W. *Fluorescens* Epidemien // *Fisch Krankheiten*. – Akademie-Verlag-Berlin, 1954. – P. 519.
219. Schäperclaus W., Brauer M. Bedeutung der Fluoreszenten für die Entstehung und Bekämpfung der infectiosen Bauchwassersucht der Karpfen // *L. Fischerei*. – 1964. – Vol. 12. - №1 – 2. – P. 75 – 96.
220. Schäperclaus W. *Fischkrankheiten*. Berlin: Akademia – Verlag. – 1979. – Teil. 1 – 2. – 1090 p.
221. Schäperclaus W. *Pseudomonas punctata* als Krankheitserreger bei Fischen. Untersuchungen über Süßwasseraalrotseuche, Leibeshöhlenwassersucht der Cypriniden, insbesondere des Karpfens und Fleckenseuche der Weißfische // *Z. Fischerei*. - 1930. - №28. - P. 289 – 370.
222. Schmid A. Arazneimittelrückstandeti // *Fischen Tierarzw. prax.* – 1980. – Vol. 8. - №2. – P. 237 – 244.
223. Schnick R.A., Meyer F.P. Status of fishery chemicals in 1985 // *Prog. Fish-Cult.* – 1986. – Vol. 48. - №1. – P. 1 – 17.
224. Scott P. Antibiotics – drugs which need care and control // *Fish farmer*. – 1981. – Vol. 4. - №4. – P. 11 – 12.
225. Shen L.L. Quinolone-DNA interaction // *Quinolone Antimicrobial Agents*, 2 nd ed., Eds. Hooper D.C., Wolfson J.S. Washington. – 1993. – P. 77 – 95.

226. Shlotfeldt H. Remarks on an increasing resistance of the fish // *Fish Pathol.* – 1985. – №20. – P. 85 – 91.
227. Shlotfeldt H.J. Probleme der Chemotherapie in der Aquakultur – von der Theorie zur Praxis // *Fischer und Teichwirt.* – 1991. - №5. – P. 173 – 176.
228. Singh D.V., Sanyal S.C. Enterotoxicity of clinical and environmental isolates of *Aeromonas* spp. // *Med. Microbiol.* – 1992. – Vol. 36. - №4. – P. 269 – 272.
229. Smith J.T., Lewin C.S. Chemistry and mechanisms of action of the quinolone antibacterials // *The Quinolones*, Ed. Andriole V.T., Acad. Press, London - New-York. – 1988. – P. 23 – 82.
230. Snieszko S.F., Ross A.J. Columnaris disease of fishes // *U. S. Dep. Interior. Fish and Wildlife Serv., Div. Fish. Res. FDL.* – 1969. - №16. – P. 1 – 4.
231. Soler L., Figueras M.J., Chacón M.R., Vila J., Marco F., Martinez-Murcia A.J., Guarro J. Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas popoffii* recovered from freshwater and seawater // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2002. - №32. – P. 243 – 247.
232. Soltani M., Munday B., Carson J. Susceptibility of some freshwater species of fish to infection by *Cytophaga johnsonae* // *Bul. Eur. Ass. Fish Pathol.* – 1994. – Vol. 14. - №4. – P. 133 – 135.
233. Soltani M., Shanker S., Munday B.L. Chemotherapy *Cytophaga/Flexibacter*-like bacteria (CFLB) infections in fish: studies validating clinical efficacies of selected antimicrobials // *J. Fish Diseases.* – 1995. – Vol. 18. - №6. – P. 555 – 565.
234. Spangenberg R. Orientierende Untersuchungen über das Vorkommen von Myxobakterien bei der Kiemennekrose des Karpfen // *Z. Binnenfischerei DDR.* – 1975. - №22. – P. 121 – 127.
235. Stahlmann R., Lode H. Safety overview; toxicity, adverse effects and drug interactions // *The Quinolones*. Ed. Andriole V.T., Acad. Press. London - New-York. – 1988. – P. 201 – 233.

236. Sun Marjoric. Use of antibiotics in animal feed challengen // Science. – 1984. – Vol. 226. - №4671. – P. 144 – 146.
237. The New Generation of Quinolones. – Eds., Siporin C., Heifetz C.L., Domagala J.M., New-York – London. – 1990. – 422 p.
238. The Quinolones. – Ed. Andriole V. T., Acad Press. London – New-York. – 1988. – 262 p.
239. Todd P.A., Faulds D. Ofloxacin. A reaprissal of its antimicrobial activity and therapeutic use // Drugs. – 1991. - №42. – P. 825 – 876.
240. Tomâšec J., Brudnjak Z., Fijan N., Kunst L. Weiterer Beitrag zur Ätiologie der infectiösen Bauchwassersucht des Karpfens // Jugoslavenska Akademija Znanostii mjetnosti. – 1964. - Bd. 16. - P. 35 – 44.
241. Toranzo A.E., Barya J.L. Fry mortality syndrome (FMS) in Spain. Isolation of the causative bacterium *Flexibacter psychrophilus* // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. – 1993. – Vol. 13. - №1. – P. 30 – 32.
242. Vadivelu J., Puthuchearu S.D., Phipps M., Chee Y.W. Possible virulence factors involved in bacteremia caused by *Aeromonas hydrophila* // J. Med. Microbiol. – 1995. – Vol. 42. - №3. – P. 171 – 174.
243. Vila J., Marco F., Soler L., Chacón M.R., Figueras M.J. In vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* biotype *sobria* // J. Antimicrob. Chemother. – 2002. - №49. – P. 525 – 529.
244. Wadström T., Ljungh A., Wretling B. Enterotoxin, haemolysin and cytotoxic protein in *Aeromonas hydrophila* from human infection // Acta path. microbiol. Scand. – 1976. – Bd 84. – P. 112 – 114.
245. Wadworth A.N., Goa K.L. Lomefloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use // Drugs. – 1991. - №42. – P. 1018 – 1060.
246. Wakabayashi H. Effect of environmental conditions on the infectivity of *Flexibacter columnaris* to fish // J. Fish Diseases. – 1991. – Vol. 14. - №3. – P. 279 – 290.

247. Wakabayashi H., Egusa S. Characteristics of a myxobacterium, *Chondrococcus columnaris*, isolated from diseased loaches // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. – 1966. – Vol. 32. - №12. – P. 1015 – 1022.
248. Wakabayashi H., Huh G.J., Kimura N. *Flavobacterium branchiophila* sp. nov., a causative agent of bacterial gill disease of freshwater fish // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1989. – Vol. 39. - №1/ - P. 213 – 216.
249. Weirowski F., Goltz A. Anwendung des Chemotherapeutikums Sulfamerazin beim Karpfen // Z. Binnenfischerei DDR. – 1989. – Vol. 36. - №9. – P. 239 – 249.
250. Weis I. von. Über das vorkommen einer kaltwasserkrankheit bei Regenbogenforellen, *Salmo giardneri* // Tierarztl. Umschau. – 1987. – Vol. 42. – P. 575 – 577.
251. Wiklung T., Kaas K., Lonnstrom L., Dalsgaard I. Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter psychrophilus*) from wild and farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Finland // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. - 1994. – Vol. 14. - №2 – P. 44 - 46.
252. Wilson A.P.R., Grüneberg R.N. Ciprofloxacin: 10 years of clinical experience // Oxford, Maxim Medical. – 1997. – 275 p.
253. Wunder W., Dombrowski H. Untersuchungen über die ansteckende Bauchwassersucht des Karpfens (*Ascites*) // Z. Fischerei. – 1953. - NF 2. P. 327 – 416.
254. Yoshida H. Mechanisms of bacterial resistance to quinolones // Sparfloxacin-Empiric antimicrobial therapy of respiratory tract infections in the community setting // Proc. 19 th Intern. Congr. Chemother., Montreal. – 1995. – P. 0110.
255. Zalte R. Oxytetracycline residues in rainbow trout (*Salmo giardneri*) from a commercial medicated farm // Acta Vet., scand. – 1982. – Vol. 23. - №1. – P. 150 – 152.

VI. ПРИЛОЖЕНИЯ



АКТ о проведении
 производственного комиссионного испытания препарата Антибак

Мы, нижеподписавшиеся, руководитель научно-исследовательской группы НВЦ «Агроветзащита» канд. вет. наук Енгашев В.Г., доцент МАВМиБ канд. вет. наук Грищенко Л.И., ст. научн. сотрудник ВИГИС канд. биол. наук Скворцова Ф.К., зав. отделом болезней рыб и паразитологии ГУ МО ВЛ Алгасов Н.М., ассистент МАВМиБ Гончарова М.И., главный рыбовод хозяйства Талок Н.И., ихтиопатолог хозяйства Миронова В.В. составили настоящий акт о том, что в течение мая - сентября 2002 года в рыбхозе «Клинский» для борьбы с аэромонозом (краснухой) карпов был проведен производственный опыт по определению лечебной эффективности препарата Антибак в комплексе лечебно-оздоровительных мероприятий проводимых в хозяйстве.

Использованные в предыдущие годы различные меры борьбы не позволили оздоровить хозяйство от этого заболевания.

В начале мая 2002 года, как и в предыдущие годы, у карпов проявился аэромоноз с охватом по разным нагульным прудам от 2 до 8%. Часть прудов с наибольшим поражением рыб были обработаны препаратом Дон-2, другая часть - гнпхлоритом кальция и негашеной известью. При контрольных обловах в третьей декаде мая и начале июня, снижения количества больных рыб в обработанных прудах не было отмечено.

По предложению сотрудников ВНИИПРХ, рыбы в неблагополучных прудах № 1, 3 и 4 Яузского участка, № 1 и 2 Владимирского и № 2 Дятловского участков была прокормлена комбикормом с субаллином согласно Наставлению.

При контрольном облове и обследовании рыб 10-11 и 20-22 июня в прудах, где были применены препараты Дон-2 и субаллин, снижения пораженности рыб «краснухой» не было отмечено, а по некоторым прудам она возросла (пруды № 3 и 4 Яузского, пруд № 2 Владимирского и № 2 Дятловского участков).

По инициативе руководства хозяйства было принято решение использовать для борьбы с заболеванием новый препарат Антибак производства НВЦ «Агроветзащита».

Во второй половине июня комбикормом с Антибаком были прокормлены трех-, четырех- и пятилетки карпа (смешанная посадка) в пруду № 4 Яузского участка, где была высокая пораженность рыб с явно выраженными признаками заболевания, а так же трехлетки в нагульном пруду № 2 участка Владимировка (пораженность 30%) и четырехлетки в нагульном пруду № 4 участка Дятлово (пораженность 26%). Ввиду недостатка препарата, он был использован работниками рыбхоза в дозе 250 мг на 1 кг рыбы трехкратно.

Через 8-10 дней после лечебного кормления (2-3 июля) в пруду № 4 Яузского участка число больных рыб снизилось до 7,7%, в пруду № 4 Дятловского участка до 6,1% и в пруду № 2 участка Владимировка до 8% рыб. Общее состояние рыб значительно улучшилось, у большинства рыб язвы зарубцевались или были в стадии рубцевания. В других прудах, где не применялся Антибак, число больных рыб составило: в прудах № 1 и № 3 Яузского участка - 17 и 16,6%, а на 20-22 июля в нагульном пруду № 2 и № 3 Дятловского участка больных рыб было 36,6% и 35,2%.

Ввиду высокой заболеваемости рыб в пруду № 3 Дятловского участка (20,2% больных и 15% с начальными признаками заболевания), они 22-30 июля были обработаны Антибаком в дозе 0,5 г/кг пятикратно через день.

При обследовании 9 августа 108 рыб из пруда № 3 и 160 рыб из пруда № 4 Дятловского участка обработанных Антибаком, признаков аэромоноза у них не было обнаружено. На Яузском участке в прудах № 1 и 3 выявлены слабовыраженные признаки аэромоноза у 10-14% рыб и в пруду № 4 из 14 обследованных рыб у одной обнаружены слабовыраженные признаки аэромоноза.

При дальнейших обследованиях рыб, обработанных Антибаком, во время контрольных обловов, признаков аэромоноза у них не было обнаружено.

С 20.06.02 по 09.08.02. проводили бактериологические исследования по контаминации рыб различной микрофлорой и влияния на нее Антибака.

По участку Дятлово от рыб с клиникой заболевания из пруда №2 выделены вирулентные аэромонады, а от рыб без клинических признаков - псевдомонады; из пруда № 3 до обработки рыб Антибаком - вирулентные и авирулентные аэромонады и после обработки - единичные колонии энтеробактерий; из пруда № 4 до обработки - аэромонады, флаво и энтеробактерии, после обработки Антибаком - единичные колонии бактерий из родов псевдомонас, флаво и ацинетобактер. По участку Владимировка от рыб с кровонизлияниями на теле из пруда № 1 выделены бактерии из родов алкалинус, флаво и ацинетобактер, и у рыб без клиники - только ацинетобактер; от рыб с клиникой из пруда № 2 после обработки Антибаком выделены вирулентные штаммы аэромонад и бактерий из родов псевдомонас и ацинетобактер. По участку Яуза от рыб из прудов № 1, 2, 3 и 4 были выделены аэромонады, энтеро и ацинетобактерии, после обработки рыб в пруду № 4 Антибаком бактерий в посевах от рыб не обнаружено.

ВЫВОДЫ

1. Проведенным эпизоотологическим обследованием и бактериологическими исследованиями подтверждено неблагоприятное рыбхоза Клинский по аэромонозу (краснухе).

2. Антибак в дозе 250мг/кг в прудах № 4 Яузского и Дятловского участков, в пруду № 2 Владимировского участка снизил заболеваемость рыб аэромонозом, предотвратил повторение вспышки в течение сезона, но не обеспечил деконтаминацию рыб от патогенной микрофлоры.

3. При применении Антибака в дозе 500мг/кг, согласно Наставлению, в пруду № 3 участка Дятлово, получен более высокий лечебный и профилактический эффект с предотвращением в этом пруду рецидива заболевания в течение нагульного сезона и деконтаминации рыб от патогенной микрофлоры.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. В 2003 году необходимо использовать препарат Антибак в самом начале вспышки аэромоноза, чтобы минимизировать экономический ущерб от заболевания и расход препарата.
2. Провести более детальное изучение эпизоотической ситуации по аэромонозу и патогенной микрофлоры у рыб в хозяйстве с изучением ее чувствительности к различным антибактериальным препаратам, в том числе к Антибаку.
3. Подобрать опытным путем наиболее оптимальную схему применения и дозировку препарата Антибак для снижения стоимости и повышения эффективности обработок рыб применительно к условиям хозяйства.
4. Уточнить или переработать План оздоровление хозяйства от аэромоноза с учетом вышеприведенных результатов производственного опыта применения препарата Антибак.

Подписи:

Енгашев В.Г.

Грищенко Л.И.


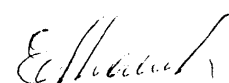
Скворцова Ф.К.

Алгасов Н.М.

Гончарова М.Н.

Галюк Н.И.

Миронова В.В.



Приложение 2

А К Т

о проведении производственного испытания препарата Антибак 100
в хозяйстве ЗАО «Рыбхоз Клинский»

1 июля 2003 г.

Мы, нижеподписавшиеся, гл. госветинспектор Клинского района А.М.Трифонов, зав.отделом болезней рыб Н.М.Алгасов и зав. отделом ветсанитарии Н.И.Абрамов ГУ Мособлветлаборатории, руководитель научно-исследовательской группы НВЦ «Агроветзащита» к.в.н. В.Г.Енгашев, ст. научн. сотрудник к.б.н. Ф.К.Скворцова, ассистент Мосветакадемии М.Н.Гончарова в присутствии гл. рыбовода хозяйства Н.И.Талюк составили настоящий акт в том, что сего числа проведен учет результатов лечебно-профилактической обработки карпов препаратом Антибак 100.

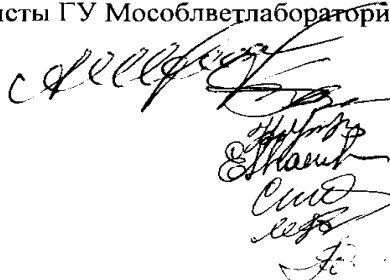
В середине мая в отдельных нагульных прудах хозяйства были отмечены единичные рыбы больные аэромонозом. В предшествующие годы в это время в хозяйстве постоянно наблюдались вспышки аэромоноза. Для предотвращения заболевания во всех нагульных прудах и питомнике хозяйства с 23 по 30 мая (трехкратно) было проведено кормление рыб лечебным кормом с Антибаком 100. Доза препарата составила 0,5 г на 1 кг массы рыб. Температура воды в период обработки рыб составляла 17° С.

При исследовании 112 экз. рыб из разных нагульных прудов хозяйства 1 июля характерных клинических признаков аэромоноза не обнаружено. У одной рыбы наблюдали покраснение кожного покрова в области брюшка. От этой рыбы и еще 4 рыб без клинических признаков взят материал для бактериологических исследований на аэромоноз.

Гидрохимический режим в прудах на день обследования был в пределах рыбоводных норм. Температура воды в прудах – 17° С.

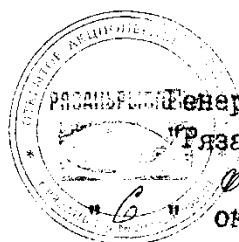
Таким образом, анализируя полученные результаты, установили, что кормление карпов лечебным кормом с Антибаком 100 оказало выраженный лечебно-профилактический эффект против аэромоноза.

Предложение: постоянный контроль за эпизоотическим состоянием хозяйства осуществляет главный госветинспектор района А.М.Трифонов и специалисты ГУ Мособлветлаборатории.



А.М.Трифонов
 Н.М.Алгасов
 Н.И.Абрамов
 В.Г.Енгашев
 Ф.К.Скворцова
 М.Н.Гончарова
 Н.И.Талюк

1 июля 2003г.



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
"Рязаньрыбпрома"

Растегаева И.М.

октября 2003 г.

Акт

от " 5 " октября 2003 г.

Мы, нижеподписавшиеся ответственный исполнитель программы по разработке лечебных мероприятий при флексибактериозе рыб доцент Грищенко Л.И., директор Новомичуринского рыбхоза Фролов Ю.А., главный рыбовод рыбхоза Кульков А.А. составили настоящий акт о результатах испытания лечебной эффективности Антибака – антибактериального препарата из группы фторхинолонов при флексибактериозе молоди радужной форели и сибирского осетра в Новомичуринском рыбхозе. Препарат применялся согласно "Временному наставлению по применению препарата Антибак при бактериальных болезнях рыб", одобренному комиссией по контролю и стандартизации химиотерапевтических и других лекарственных средств для животных 23.12.2002 г. и утвержденному Департаментом ветеринарии МСХ РФ 25.06.2003 г.

В период с марта по июль 2003 г. исполнителями программы проведены 4-х кратные диагностические исследования по выявлению флексибактериоза в хозяйстве среди сеголеток форели, малькови сеголеток сибирского осетра. В результате установлено две вспышки болезни: в марте месяце среди сеголеток форели, содержащейся в садках и бассейнах инкубационного цеха; и в мае-июне среди мальков и сеголеток сибирского осетра, содержащихся в лотках инкубационного цеха. Забелевание проявлялось характерными клинико-анатомическими признаками, сопровождалось гибелью рыб, этиологический диагноз подтвержден при микроскопическом и бактериологическом исследовании патматериалов от больных рыб. Кроме выделения основного возбудителя болезни – бактерий рода флексибактер, при бактериологическом исследовании обнаружено бактерионосительство в органах больных рыб условно патогенных псевдомонад (весной) и аэромонад (летом), которые осложняли течение флексибактериоза. Поскольку флексибактериоз не является карантинным заболеванием материалы для наложения ветеринарных ограничений на хозяйство в ветеринарные органы не представлялись (см. "Временную инструкцию о мероприятиях по борьбе с миксобактериозами рыб №13-4-2/1395 от 18.09.98 г.).

В связи с тем, что длительно применяемый в хозяйстве антибиотик тетрациклин и другие препараты не давали надежного лечебно-профилактического эффекта, нами проведено испытание лечебной эффективности Антибака 100 и

- 2.

Антибака 250 при флексибактериозе в условиях Новомичуриноского рыбхоза. Препарат применялся в основном с кормом и на небольшом поголовье (1000 мальков осетра) в виде ванн (Антибак 250) поэтапно. Вначале обработке подвергали небольшое количество рыб (до 1000 экз.) в лотках инкубатора. Затем, получив положительный результат, проведена массовая обработка заболевших рыб Антибаком 100 с комбикормом 5-тикратно (1 раз в день) в дозе 0,5 и 1,0 г на 1 кг массы рыбы. Дополнительно поставлен опыт по определению сравнительной эффективности Антибака 100 и тетрациклина (доза 70 мг/кг 10-тикратно) на 1000 экз. мальков осетра в каждой группе при введении их с кормом и в сочетании с ваннами с Антибаком 250 (концентрация 10 мг/л д.в.) и хлорамином (70 мг/л, г/м³), а также проверке токсичности Антибака 250 в растворе для мальков осетра с испытанием концентраций 500, 100, 50 и 20 мг/л д.в.

В результате проведенных опытов установлена достаточно высокая лечебная эффективность Антибака, достигающая при сочетанном применении его с кормом и в ваннах 81,2%, а в сочетании с хлораминовыми ваннами -100% в то время как в контроле заболеваемость рыб составляла 8,5 % и сопровождалась гибелью рыб. В опытах с тетрациклином, применявшимся с кормом в сочетании хлораминовыми ваннами, получены сходные результаты, но он применялся 10-тикратно, а Антибак 5-тикратно. Следовательно, Антибак выгодно отличается от тетрациклина по лечебной эффективности и меньшей кратности применения. После однократного курса лечения сеголеток форели Антибаком в марте месяце в количестве 20 тыс. шт. и мальков и сеголеток сибирского осетра в количестве 15 тыс. шт., которое проводилось с дачей препарата только с кормом, гибель рыб полностью прекратилась, исчезли клинические признаки болезни и рецидива заболевания не отмечено в течение всего летнего выращивания обработанной рыбы. В настоящее время при клиническом обследовании рыб 5 октября 2003 г. признаки флексибактериоза и других заразных болезней не обнаружены, обследованные сеголетки форели и сибирского осетра здоровы.

В испытанных лечебных дозах и концентрациях клинически не выявлено токсическое действие Антибака 100 и Антибака 250 на обрабатываемых рыб. В специальном опыте по определению токсичности раствора Антибака 250 установлена гибель мальков осетра через 24 часа только в концентрации 500 мг/л д.в., остальные концентрации (100, 50, 20 мг/л) не вызвали летального эффекта, что свидетельствует о его малой токсичности для рыб при применении в терапевтических концентрациях.

- 3.

Выводы и предложения.

1. Антибак 100 и Антибак 250 в условиях Новомичуринского рыбхоза показал достаточно высокую лечебную эффективность при флексобактериозе молоди форели и сибирского осетра, он в лечебных дозах и концентрациях не оказывал токсического эффекта при пероральном введении и применении в виде раствора.

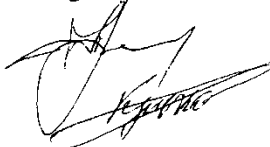
2. Он оказался более эффективным и экономичным препаратом по сравнению с тетрациклином.

3. На основании проведенных испытаний рекомендуем применять Антибак 100 с кормом для лечения молоди форели и осетровых рыб при флексобактериозе согласно "Временному наставлению". Для большей эффективности лечебные обработки целесообразно проводить комплексно - задавать Антибак 100 с кормом в сочетании с обработкой рыб в ваннах - хлораминовых или с Антибаком 250.

Подписи:



Л.И. Грищенко



К.А. Фролов

А.А. Кульков

**МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минсельхоз России)**

Департамент ветеринарии

107139, Москва, Орликов пер., 1/11.

Для телеграмм: Москва, 84

Минсельхоз.

Тел./Факс: (095) 975-58-50

E-mail: info@vet.msk.ru

<http://www.vet.msk.ru>

26.03.04г. № 13-3-04/0976

На №

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Департамента



А. Нepochalov

2004 г.

НАСТАВЛЕНИЕ
по применению препарата Антибак при
бактериальных болезнях рыб

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1. Антибак - антибактериальный препарат для рыб, содержащий в качестве действующего вещества ципрофлоксацин, а также вспомогательные компоненты.

1.2. Препарат выпускают в следующих модификациях: Антибак 100 и Антибак 500 (порошок), Антибак 250 (таблетки).

Антибак 100 - представляет собой водонерастворимый порошок светло-коричневого цвета, содержащий в 1 г 100 мг ципрофлоксацина. Антибак 500 - растворимый в воде порошок белого цвета, содержащий в 1 г 500 мг ципрофлоксацина. Выпускают Антибак 100 и Антибак 500 расфасованными по 30; 40; 50; 100 г в полимерных банках с крышками и по 10; 20 г; 0,5; 1; 10 кг в пакетах из многослойной бумаги.

Антибак 250 - растворимые в воде таблетки от белого до серого цвета с риской массой 0,5 г, содержащие 250 мг ципрофлоксацина. Выпускают Антибак 250 расфасованным по 6 таблеток в блистерах, упакованных в картонные коробки. На блистерах указывают: название препарата и фирмы-изготовителя, название и содержание действующего вещества, номер серии, срок годности и количество таблеток. Допускается другая фасовка, согласованная в установленном порядке.

1.3. Хранят препарат с предосторожностью (список Б) в заводской упаковке, в защищенном от света и влаги, недоступном для детей и животных месте, отдельно от пищевых продуктов и кормов, при температуре от минус 10 до плюс 30° С. Срок годности препарата при соблюдении условий хранения - 2 года со дня изготовления.

2. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

2.1. Ципрофлоксацин, входящий в состав препарата Антибак, обладает бактерицидным действием против возбудителей бактериальных болезней рыб, в том числе, аэромонад, псевдомонад, микобактерий, стрептококков, вибрионов, миксобактерий, коринобактерий, цитробактерий, йерсиний и энтеробактерий.

Рыбы после обработки Антибаком приобретают невосприимчивость к бактериальным болезням в течение текущего нагульного сезона.

2.2. Антибак по степени воздействия на организм относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76).

3. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА

3.1. Препарат Антибак применяют рыбам с лечебно-профилактической целью при аэромонозе, псевдомонозе, миксобактериозах, коринобактериозе, плавниковой и жаберной гнили, цитробактериозе, фурункулезе, вибриозе, стрептококкозе, других бактериозах и заболеваниях осложненных бактериальной флорой.

Антибак 100 применяют рыбам внутрь с кормом, Антибак 250 и 500 - наружно в виде купочных растворов (ванн).

3.2. Антибак 100 назначают рыбам с кормом в дневной дозе 1 г на 1 кг массы рыбы при псевдомонозе и флексибактериозе, при других заболеваниях (п. 3.1.) - 0,5 г/кг. При дозе препарата 1 г/кг в тонну гранулированного комбикорма в процессе его изготовления вводят 20 кг препарата, при дозе 0,5 г/кг - 10 кг. Полученный лечебный комбикорм скармливают в дозе 5 кг на 100 кг массы рыб, что соответствует суточной дозе препарата. При заболевании менее 10% рыб или при легкой форме течения болезни лечебный комбикорм дают через день 3 дня, при большем поражении или при тяжелом течении болезни - 5 дней. При отсутствии возможности изготовления лечебного комбикорма в заводских условиях, дневную дозу Антибака 100 увеличивают на 20% и смешивают с увлажненной дневной порцией корма непосредственно в хозяйстве.

В неблагополучных по бактериальным болезням хозяйствах лечебный гранулированный корм с Антибаком 100 готовят заблаговременно и при появлении больных рыб проводят обработку всех восприимчивых групп.

3.3. Антибак 250 и Антибак 500 используют для приготовления лечебных растворов (ванн). С этой целью таблетки или порошок растворяют в 0,5-5 литрах пресной воды и вносят в емкости с водой, используемые для обработки рыб.

В лечебном растворе рыб выдерживают до выздоровления: ежедневно по 3-5 часов на протяжении 3-8 дней (кратковременные ванны) или в течение 5-8 дней без перерыва (долговременные ванны). Ежедневно готовят и используют свежий раствор препарата.

При кратковременных ваннах 1 таблетку Антибака 250 растворяют в 10 л, а при долговременных – в 200 л воды. 1 г Антибака 500 растворяют, соответственно, в 20 и 400 л воды.

Обработку рыб проводят в отдельных емкостях, оборудованных системой аэрации, или непосредственно в декоративном бассейне. В период обработки емкость (бассейн) затеняют от прямого света. Кормление рыб проводят в обычном режиме.

3.4. Побочных явлений и осложнений у рыб и других гидробионтов при применении препарата Антибак в соответствии с наставлением не установлено.

3.5. Отлов и использование товарной рыбы в пищевых целях разрешается не ранее, чем через 7 суток после окончания применения препарата Антибак.

Характеристика препарата

Антибак имеет качества лучших мировых лечебно-профилактических средств, подтвержденные научными исследованиями и практическим применением у рыб.

1. Универсальность. Препарат применим для всех видов рыб, всех возрастных групп, наружно в лечебных ваннах, внутрь с кормом и инъекционно с лечебной и профилактической целью по широким показаниям. Это дает возможность быстро применить препарат, не дожидаясь результатов бактериологических исследований.

2. Высокая бактерицидность и широкий спектр действия, которые обеспечивают гибель всех бактерий - возбудителей болезней в рыбе и воде. Этим Антибак быстро прекращает отход и излечивает рыб, а при их перевозках предотвращает распространение инфекций.

3. Высокая лечебная и профилактическая эффективность обеспечивающая 90-100%-ное излечение больных рыб, создание у них невосприимчивости к бактериозам на весь нагульный сезон, прекращение гибели рыб и снижение тяжести болезни при вирусных, грибковых, инвазионных и незаразных болезнях, осложненных бактериозами.

4. Повышенная биодоступность для рыб, обеспеченная вспомогательными компонентами препарата.

5. Отсутствие потерь ципрофлоксацина при внесении гранул в воду, за счет перевода его в нерастворимую форму и действия вспомогательных компонентов.

6. Безопасность применения ввиду низкой токсичности препарата, не вызывающего побочные явления и осложнения у рыб, отсутствие загрязнения им внешней среды и замедленное развитие у бактерий резистентности к Антибаку.

7. Термостойкость, позволяющая вводить Антибак в корма при гранулировании.

8. Высокая экономическая эффективность обусловленная повышением рыбопродуктивности, восстановлением и сохранением товарного качества рыбы, увеличением объемов реализации рыбопосадочного и племенного материала при сложной эпизоотической обстановке, невысокой стоимостью обработки рыб.

Рекомендации по оздоровлению от аэромоноза рыбоводных хозяйств

Оздоровить хозяйство можно путем проведения следующих мероприятий.

1. Кормление лечебным гранулированным комбикормом с Антибаком 100 карпов всех возрастов в хозяйстве весной при достижении температуры воды 15°C, а сеголетков - во второй половине лета. Антибак вызывает гибель возбудителей аэромоноза в рыбах, излечивает и создает у рыб невосприимчивость к новому заражению. Передача возбудителей от рыб в воду и из воды в рыбу прекращается. Это прерывает эпизоотический процесс и течение аэромоноза.

2. Подавление возбудителей аэромоноза в прудах путем ежемесячного внесения извести до нормы рН 8-9 или гипохлорита кальция по воде и ежегодной дезинфекции прудов.

3. Сохранение невосприимчивости рыб к заражению путем проведения рыбоводных и ветеринарно-санитарных мероприятий, обеспечивающих благоприятный гидрохимический режим и санитарное состояние прудов, профилактику других заболеваний.

4. Повышение резистентности рыб при невозможности проведения в полном объеме мероприятий по пунктам 2-3, путем двукратного лечебного кормления карпов в июле-августе.

5. Предотвращение заноса инфекции со стороны. На период оздоровления хозяйства в него не должна завозиться рыба из других хозяйств (водоемов). В случае крайней необходимости, при завозе вся рыба должна быть обработана Антибака 500 в дозе 20 мг/л в живорыбных машинах во время перевозки при экспозиции не менее 3 часов, с последующим двукратным кормлением лечебным кормом всех рыб в пруду, куда посажены завезенные рыбы.

Осуществление этих мероприятий привело к оздоровлению рыбы от аэромоноза в рыбхозе «Черепетский» Тульской области и в рыбхозе «Клянский» Московской области.

6. Затраты по Антибаку 100 на весеннюю трехкратную обработку 1 тонны рыбы составят 540-600 руб и по Антибаку 500 на обеззараживание 1 тонны воды и находящихся в ней годовиков карпа при перевозке - 39 руб.

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Руководителя
Россельхознадзора
Е. А. Непоклонов
« 26 » февраля 2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению Антибака 100 для лечения
и профилактики болезней бактериальной этиологии товарных рыб

(организация-производитель ООО "НВЦ Агроветзащита С.-П.",
г. Сергиев Посад, Московская область)

I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Антибак 100 (Antibak 100) лекарственное средство для лечения и профилактики болезней товарных рыб бактериальной этиологии.

2. Антибак 100 в качестве действующего вещества в 1 г содержит ципрофлоксацин гидрохлорид - 100 мг, а также вспомогательный компонент - лигносульфат.

3. Лекарственное средство представляет собой порошок от белого до серого цвета нерастворимый в воде.

4. Антибак 100 выпускают расфасованным в пакеты из многослойной бумаги и полимерные ведра по 1 и 10 кг.

Каждый пакет и ведро маркируют с указанием организации-производителя, ее товарного знака и адреса, названия и назначения препарата, названия и содержания действующего вещества, способа применения, количества препарата в упаковке, номера серии, даты изготовления, срока годности, условий хранения, обозначения ТУ, надписи «Для животных» и снабжают инструкцией по применению.

5. Хранят лекарственное средство с предосторожностью (список Б) в заводской упаковке, в сухом, защищенном от прямых солнечных лучей месте, отдельно от пищевых продуктов и кормов, при температуре от минус 10° до 30°С.

Срок годности лекарственного средства при соблюдении условий хранения - 2 года со дня изготовления.

Антибак 100 по истечении срока годности не должен применяться.

II. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

6. Ципрофлоксацина гидрохлорид, входящий в состав препарата, обладает бактерицидным действием против возбудителей болезней рыб бактериальной этиологии, в том числе, аэромонад, псевдомонад, стрептококков, вибрионов, миксобактерий и энтеробактерий.

Механизм действия ципрофлоксацина основан на блокировании фермента бактерий ДНК-гиразы, в результате чего нарушается синтез белка в микробной клетке и происходит ее гибель.

7. Антибак 100 по степени воздействия на организм относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), в рекомендуемых дозах хорошо переносится рыбами и другими гидробионтами.

III. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

8. Антибак 100 назначают товарным рыбам с лечебной и лечебно-профилактической целью при аэромонозе, псевдомонозе, миксобактериозах, фурункулезе, вибриозе, стрептококкозе, бактериальном некрозе жабр и плавников и других инфекциях, вызванных чувствительными к ципрофлоксацину микроорганизмами.

9. С лечебной и лечебно-профилактической целью Антибак 100 назначают рыбам с кормом в суточной дозе (на 1 кг массы рыбы)

при аэромонозе – 0,1 г/кг;

при фурункулезе, вибриозе, стрептококкозе, бактериальном некрозе жабр и плавников - 0,5 г/кг;

при псевдомонозе и миксобактериозах – 1 г/кг.

10. Лечебный корм с антибаком 100 готовят методом тритурации.

Антибак 100 вводят в корм в зависимости от заболевания рыб и рекомендуемой терапевтической дозы в следующих количествах (кг/т корма):

Суточная терапевтическая доза, на 1 кг массы рыбы	Антибак 100	
	Норма ввода, на 1 т корма	Содержание в корме, %
0,1 г	2 кг	0,2
0,5 г	10 кг	1
1 г	20 кг	2

При изготовлении лечебного корма в хозяйстве Антибак 100 в дозе, рассчитанной на общую массу рыб, подлежащих обработке, смешивают с дневной порцией увлажненного рассыпного корма или в виде водной суспензии равномерно наносят на гранулированный корм, тщательно перемешивая и увлажняя все гранулы.

11. Полученный лечебный корм скармливают рыбам из расчета 5 кг на 100 кг массы рыб в сутки при температуре воды в водоеме не ниже 12⁰С. Курс лечения составляет 5-10 дней.

Профилактика болезней бактериальной этиологии осуществляется скармливанием лечебного корма товарным рыбам в течение 3 суток.

12. Побочных явлений и осложнений у рыб и других гидробионтов при применении Антибака 100 в соответствии с инструкцией не наблюдается.

13. Отлов и использование товарной рыбы в пищевых целях разрешается не ранее, чем через 4 суток после окончания применения Антибака 100.

IV. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

14. При работе с препаратом Антибак 100 следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами.

15. Препарат следует хранить в местах, недоступных для детей.

Инструкция разработана ООО "Научно-внедренческий центр Агроветзащита" (г. Москва).

Организация-производитель: ООО "НВЦ Агроветзащита С.-П.", 141300, Россия, Московская область, г. Сергиев Посад, Центральная ул., 1.

Рекомендовано к регистрации в Российской Федерации ФГУ "ВГНКИ".

Регистрационный номер *ПВР-2-8.6/01849*

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Руководителя
Россельхознадзора
Е. А. Непоклонов
"20" сентября 2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Антибака 500 для лечения и профилактики
болезней бактериальной этиологии товарных рыб

(Организация-производитель ООО "НВЦ Агроветзащита С.-П.",
г. Сергиев Посад, Московская область)

I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Антибак 500 (Antibak 500) лекарственное средство для лечения и профилактики болезней бактериальной этиологии товарных рыб.

2. Антибак 500 в качестве действующего вещества содержит ципрофлоксацина гидрохлорид - 500 мг/г, а также вспомогательный компонент - лактозу.

3. Лекарственное средство представляет собой порошок от белого до серого цвета, легко растворимый в воде.

4. Антибак 500 выпускают расфасованным по 1 кг в полимерных банках. Каждую банку маркируют с указанием: организации-производителя, ее товарного знака и адреса, названия и назначения препарата, названия и содержания действующего вещества, способа применения, количества препарата в упаковке, номера серии, даты изготовления, срока годности, условий хранения, обозначения ТУ, надписи «Для животных» и снабжают инструкцией по применению.

5. Хранят лекарственное средство с предосторожностью (список Б) в заводской упаковке, в сухом защищенном от прямых солнечных лучей месте отдельно от пищевых продуктов и кормов, при температуре от минус 10⁰ до 30⁰С.

Срок годности лекарственного средства при соблюдении условий хранения - 2 года со дня изготовления.

Антибак 500 по истечении срока годности не должен применяться.

II. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

6. Ципрофлоксацина гидрохлорид, входящий в состав Антибака 500, обладает бактерицидным действием против возбудителей бактериальных болезней рыб, в том числе, аэромонад, псевдомонад, стрептококков, вибрионов, миксобактерий и энтеробактерий.

Механизм действия ципрофлоксацина основан на блокировании фермента бактерий ДНК-гиразы, в результате чего нарушается синтез белка в микробной клетке и происходит ее гибель.

7. Антибак 500 по степени воздействия на организм относится к умеренно опасным веществам (3 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не обладает местно-раздражающим и резорбтивно-токсическим действием, в рекомендуемых дозах хорошо переносится рыбами и другими гидробионтами.

III. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА

8. Антибак 500 назначают товарным рыбам с лечебной и лечебно-профилактической целью при аэромонозе, псевдомонозе, миксобактериозах, фурункулезе, вибриозе, стрептококкозе и других инфекциях, вызванных чувствительными к ципрофлоксацину микроорганизмами.

9. Антибак 500 применяют наружно в форме лечебного раствора, используя кратковременные или долговременные ванны.

Обработку рыб проводят в отдельных емкостях (бассейнах, аквариумах), оборудованных системой аэрации. В период обработки емкость затеняют от прямого солнечного света.

В лечебном растворе при проведении кратковременных ванн рыб выдерживают ежедневно по 4 часа на протяжении 6 дней, при проведении долговременных ванн – в течение 6 дней без перерыва.

10. Для приготовления лечебного раствора в кратковременных ваннах Антибак 500 применяют из расчета 1 г на 10 л воды, в долговременных – 1 г на 200 л воды.

Рассчитанное количество Антибака 500 предварительно растворяют в 0,5 – 5 литрах пресной воды и затем вносят в емкости с водой, используемые для обработки рыб.

В случае проведения кратковременных ванн ежедневно готовят свежий лечебный раствор; при проведении долговременных ванн ежедневно заменяют 20% лечебного раствора на свежую воду с добавлением 1/5 полной дозы препарата.

Для профилактики распространения опасных штаммов аэромонад при перевозке рыбы из неблагополучных по данному заболеванию регионов Антибак 500 добавляют в воду транспортной емкости в дозе 1г/50 л воды. Рыба должна находиться в растворе препарата не менее 4 часов.

11. Побочных явлений и осложнений у рыб и гидробионтов при применении препарата Антибак 500 в соответствии с настоящей инструкцией не установлено.

12. Отлов и использование в пищевых целях товарной рыбы разрешается не ранее, чем через 4 суток после последней лечебной обработки Антибаком 500.

IV. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

13. При работе с препаратом Антибак 500 следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами.

14. Препарат следует хранить в местах, недоступных для детей.

Инструкция разработана ООО "Научно-внедренческий центр Агроветзащита" (г. Москва).

Организация-производитель: ООО "НВЦ Агроветзащита С.-П.", 141300, Россия, Московская область, г. Сергиев Посад, Центральная ул., 1.

Рекомендовано к регистрации в Российской Федерации ФГУ "ВГНКИ".

Регистрационный номер *ПВР-2-8.6/01847*

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РФ
Федеральное государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Московская государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина»

Утверждаю:

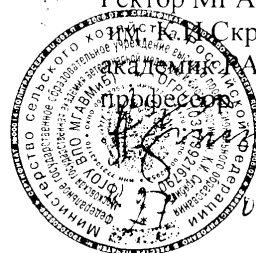
Ректор МГАВМиБ

им. К.И.Скрябина

академик РАСХН,

профессор

Е.С.Воронин



2007 г.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА
АНТИБАК ДЛЯ БОРЬБЫ С АЭРОМОНОЗОМ,
ПСЕВДОМОНОЗОМ И МИКСОБАКТЕРИОЗАМИ РЫБ

Москва – 2007

Рекомендации подготовили:

Грищенко Л.И., доктор ветеринарных наук, профессор; **Гончарова М.Н.**, ветврач, ст. преподаватель (Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина); **Енгашев В.Г.**, кандидат ветеринарных наук; **Гаврилин К.В.**, кандидат биологических наук (Научно-внедренческий центр «Агроветзащита»); **Титаренко А.Г.**, ветврач, начальник экспедиции (Экспедиция по борьбе с болезнями рыб Управления ветеринарии Ростовской области).

Предназначены для ветеринарных специалистов госветслужбы, ихтиопатологов и рыбоводов рыбоводных хозяйств.

Рассмотрены и одобрены научно-методической комиссией Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина протокол №1 от 19.01.07.

Рецензент:

Уразаев Д.Н. – доктор ветеринарных наук, профессор (Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина).

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИИ
ДЕПАРТАМЕНТ ВЕТЕРИНАРИИ И ЖИВОТНОВОДСТВА**

Рекомендации составлены с учетом действующих инструкций "О мероприятиях по борьбе с аэромономозом карповых рыб", "О мероприятиях по профилактике и ликвидации псевдомоноза рыб", "О мероприятиях по борьбе с миксобактериозами лососевых рыб", утвержденных Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода РФ 18-22.09.1998 г., инструкций "По применению Антибака 100 и Антибака 500 для лечения и профилактики болезней бактериальной этиологии товарных рыб", утвержденных Россельхознадзором 20.02.2007 г.

Рекомендации предназначены для специалистов госветслужбы, руководителей рыболовных хозяйств, рыбоводов, ихтиопатологов, фермеров и физических лиц, занимающихся рыбоводством.

В рекомендациях обобщены новейшие научные данные по проблеме заболеваемости рыб бактериальной этиологии и опыт 5-ти летнего практического применения препаратов Антибак для борьбы с бактериозами рыб.

Рекомендации рассмотрены и одобрены

1. На совместном заседании Научно-консультативного совета по болезням рыб ФГУ "Межведомственная ихтиологическая комиссия" и Секции патологии рыб и охраны гидробионтов Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 1-21/150 от 12.07.2006 г.
2. Московской Государственной академией ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, протокол от 27.01.2007 г.
3. ФГУ Центральной научно-методической лабораторией Минсельхоза России, заключение №332 от 16.03.2007 г.

**РЕКОМЕНДАЦИИ ПО БОРЬБЕ С АЭРОМОНОЗОМ,
ПСЕВДОМОНОЗОМ И МИКСОБАКТЕРИОЗАМИ РЫБ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТОВ АНТИБАК**

ОДОБРЕНО:

Директор департамента ветеринарии
и животноводства Министерства
сельского хозяйства Российской Федерации

