

Results. A growth activity of the classic medium – mix of medium 199, Eagle Medium and bovine serum (45%+45%+10%) was tested with the positive result. The technology of globulin-free non-toxic native bovine blood serum production was worked out. The antigen derived from cell-culture fluid which was grown using such serum characterized by a titer 1:7 compared to 1:3 after conventional technology. It was studied the properties of the globulin-free (PEG-treated) serum as a component of culture media. On the basis of the dry components of the «Eagle», «199», «L-glutamin» and globulin-free serum a manufacturing of the complex medium for the FLK-BLV culturing was conducted.

The studies in in the OIE reference laboratory in Pulawy confirmed that kit from the company «Veterinary Medicine» Ltd is not inferior to the best European producers such as Pourquier Institute, D-r Bommeli AG., Symbiotics Corporation.

Conclusions. 1. For the first time in Ukraine diagnostic kit was constructed for indication of infected animals by BLV using immune diffusion test. Manufacture of the components are provided as liquid and lyophilized forms that satisfy the needs of the national laboratory network of Veterinary Medicine in Ukraine.

2. An implementation of the competitive domestic diagnosticum in Ukrainian veterinary practice relieved dependence of foreign analogues, while the total savings of public funds from the introduction of the development is 48.9 million UAH.

Keywords: Bovine leucosis, FLK-BLV cell culture, medium, diagnosticum, economic efficiency

УДК: 619:579.831:616-076

ОЦІНКА ТЕРАПЕВТИЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИМІКРОБНОГО ЗАСОБУ «ВЕРМІБАК-ПЛЮС» ПРИ ЛІКУВАННІ АЕРОМОНОЗУ РИБ

Євтушенко А. В., Євтушенко І. Д.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: aevt@ukr.net

Воловик Т. П., Збожинська О. В.

Рівненська дослідна станція, м. Рівне, Україна

У статті представлені результати досліджень з розробки протимікробного засобу на основі флорфеніколу із природним сорбентом вермикулітом – препарату «Вермібак-плюс». Терапевтична ефективність препарату «Вермібак-плюс» спостерігається при застосуванні його у дозі 7,0 мг/кг маси (за ДР). Результати проведених випробувань експериментальної серії препарату «Вермібак-плюс» в умовах виробництва свідчать про те, що він не поступається за ефективністю імпортованим препаратам та звільняє організм риб від інфекції вже на сьому добу лікування.

Ключові слова: аеромонади, вермикуліт, флорфенікол, риба, терапевтична ефективність

Бактеріальні захворювання риб залишаються актуальною проблемою для промислового рибництва. За останні десятиріччя в умовах аквакультури та природних водоймах спостерігається тенденція до зростання рівня захворюваності риби на бактеріальні хвороби. Поширенню інфекційних хвороб сприяє безконтрольне завезення риби з рибогосподарств з невизначеною епізоотичною ситуацією, незадовільний санітарний стан водойм, а також несвоєчасна діагностика захворювань. Система контролю при аеромонозі риб включає проведення ветеринарно-санітарних заходів із застосування протимікробних засобів. Розробка і впровадження нових лікарських форм протимікробних засобів для лікування бактеріальних захворювань риб є актуальним питанням і потребує вирішення.

Метою роботи було розробити лікарську форму протимікробного засобу на основі флорфеніколу із природним сорбентом вермикулітом - препарату «Вермібак-плюс», визначити його терапевтичну дозу за аеромонозу коропа, провести порівняльну оцінку терапевтичної ефективності з іншими протимікробними засобами, випробувати експериментальну серію препарату «Вермібак-плюс» в умовах виробництва.

Матеріали та методи. Було розроблено декілька варіантів порошкоподібної лікарської форми препарату на основі діючої речовини – флорфеніколу з різною концентрацією наповнювачів – вермикуліта та крохмалю. Для визначення ефективності та терапевтичної дози препарату було створено п'ять груп риб (короп лускатий дволітнього віку масою 200-250 г) по 10 особин у кожній. Рибу заражали збудником аеромонозу із застосуванням штаму *Aeromonas hydrophila* K5-06. Для зараження використовували змиви з (24–48)-годинної агарової культури стандартизовані до концентрації 10^9 мікробних клітин за оптичним мікробіологічним стандартом ДНКІБШМ. Культуру вводили внутрішньочеревно в дозі $0,1 \text{ см}^3$ (1×10^8 мікробних клітин). Через п'ять діб рибам дослідних груп індивідуально за допомогою катетера на основі 2 %-го крохмального клейстеру задавали різні лікарські форми протимікробного засобу: рибам I-групи – флорфенікол (наповнювач – крохмаль) у добовій дозі 10,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб, II-групи – флорфенікол (наповнювач – крохмаль) у добовій дозі 7,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб; III-групи – флорфенікол

(наповнювач – крохмаль та вермікуліт (1:1)) у добовій дозі 10,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб; IV-групи – флорфенікол (наповнювач – вермікуліт) у добовій дозі 10,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб; V-групи – флорфенікол (наповнювач – вермікуліт) у добовій дозі 7,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб. Риbam контрольної групи задавали 2 %-ий крохмальний клейстер з вермікулітом (1:1) без флорфеніколу. Рибу кожної групи утримували в окремих акваріумах ємністю 200 дм³ із підтриманням відповідного гідрохімічного режиму. Через сім діб після закінчення досліду було проведено бактеріологічні дослідження риb на наявність збудника інфекції.

На наступному етапі досліджень було створено три дослідні та дві контрольні групи риb (короп лускатий дволітнього віку масою 200–250 г) за принципом аналогів по 10 особин у кожній. Риb дослідних та першої контрольної груп заражали збудником аеромонозу аналогічно до попереднього досліду. Риb другої контрольної групи не заражали. Через п'ять діб після зараження риbam трьох дослідних індивідуально за допомогою катетера на основі 2 %-го крохмального клейстеру задавали наступні протимікробні засоби: риbam I-групи – препарат «Вермібак-плюс» у добовій дозі 10,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб, II-групи – препарат «Вермібак-плюс» у добовій дозі 7,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб, III-групи – препарат «Флосан» (ДР – флорфенікол (4 %), виробництва «Біофарм», Україна) у добовій дозі 10,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб; IV-групи – препарат «Флорон» (ДР – флорфенікол (2%), виробництва KRKA d.d., Словенія) у добовій дозі 10,0 мг/кг (за ДР) протягом семи діб. Риbam контрольних груп задавали 2 %-ий крохмальний клейстер (без терапевтичного засобу) в об'ємі по 0,5 см³. Рибу кожної групи утримували в окремих акваріумах ємністю 200 дм³ із підтриманням відповідного гідрохімічного режиму. Через 7 діб після початку досліду було проведено бактеріологічні дослідження риb на наявність збудника інфекції.

Виробниче випробування препарату було проведено в умовах риbницького господарства, розташованого на території Харківської області. Хвору рибу було розділено на три групи у відповідності до кількості ставків, де реєстрували спалах захворювання. Експериментальний зразок протимікробного засобу «Вермібак-плюс» у дозі 7,0 мг/кг (за ДР) задавали риби I-групи у суміші із зволженим комбікормом протягом семи діб, риbam II-групи задавали препарат «Флорон» у рекомендованій фірмою-виробником дозі (KRKA d.d., Словенія) у суміші із зволженим комбікормом також протягом семи діб; риbam III-групи протимікробний засіб не задавали. Облік результатів проводили через сім діб після останнього застосування протимікробного засобу шляхом проведення бактеріологічних досліджень риb кожної дослідної та контрольної групи на наявність збудника інфекції.

Результати досліджень. На першому етапі досліджень було розроблено декілька варіантів лікарської форми протимікробного засобу, які містили різну концентрацію наповнювачів – вермікуліта та крохмалю. При цьому, в усіх зразках концентрація флорфеніколу становила 4 %. У першому та другому варіантах в якості наповнювача використовували крохмаль. У третьому варіанті в якості наповнювача використовували крохмаль та вермікуліт (1:1), у четвертому та п'ятому варіантах в якості наповнювача використовували вермікуліт.

Результати проведених досліджень з визначення терапевтичної ефективності створених форм препарату при оральному застосуванні його лускатому коропу, штучно зараженого аеромонозом (штам *Aeromonas hydrophila* K5-06) наведені у таблиці 1.

Таблиця 1 – Визначення терапевтичної ефективності створених форм препарату на основі флорфеніколу при лікуванні риb за аеромонозу

Номер групи	Наповнювач	Доза препарату (за ДР), мг/кг	Наявність клінічних ознак	Реізоляція збудника
I	крохмаль	10,0	–	–
II	крохмаль	7,0	+	+
III	крохмаль та вермікуліт (1:1)	10,0	–	–
IV	вермікуліт	10,0	–	–
V	вермікуліт	7,0	–	–
Контроль	крохмаль та вермікуліт (1:1)	–	+	+

Результати, представлені у таблиці 1 свідчать, що через сім діб після початку досліду у першій, третій, четвертій та п'ятій дослідних групах клінічних ознак аеромонозу у риb не виявляли та збудника аеромонозу не реізолювали. Ці дані свідчать про терапевтичну ефективність застосованих форм препарату. При цьому, у разі використання в якості наповнювача лише вермікуліту (96 %), лікувальну ефективність реєстрували навіть при зниженні дози флорфеніколу до 7,0 мг/кг. У той же час у риb другої дослідної та контрольної груп спостерігались класичні клінічні ознаки аеромонозу – куйовдження луски, екзофтальмія, асцит. При цьому, у результаті мікробіологічних досліджень у риb цих груп був реізолюваний штам *Aeromonas hydrophila* K5-06, що свідчить про відсутність терапевтичного ефекту лікарської форми флорфеніколу на основі крохмалю в дозі 7,0 мг/кг маси (за ДР) за умов застосування протягом семи діб.

Отже, за результатами досліджень було обрано лікарську форму протимікробного засобу, яка містила 4 % флорфеніколу та 96 % вермікуліту. Препарат отримав назву «Вермібак-плюс».

Для проведення порівняльної оцінки ефективності препарату «Вермібак-плюс» були використані терапевтичні засоби, що традиційно використовуються у риборівництві – «Флосан» та «Флорон». Препарати застосовували протягом семи діб у добових дозах, зазначених у таблиці 2. Результати проведених досліджень при оральному застосуванні даних препаратів коропа лускатому, штучно зараженому збудником аеромонозу (штам *Aeromonas hydrophila* K5-06) наведені у таблиці 2.

Таблиця 2 – Результати проведення порівняльної оцінки ефективності препаратів «Вермібак-плюс», «Флосан» та «Флорон» при експериментальному аеромонозі коропа

Номер групи	Препарат	Добова доза препарату (за ДР), мг/кг	Наявність клінічних ознак	Реізоляція збудника
I	«Вермібак»	10,0	–	–
II	«Вермібак»	7,0	–	–
III	«Флосан»	10,0	–	–
IV	«Флорон»	10,0	–	–
Контроль I (заражені)	2% крохмальний клейстер	0,5 см ³	+	+
Контроль II (інтактні)	2% крохмальний клейстер	0,5 см ³	–	–

Результати, представлені у таблиці 2, свідчать що за умов застосування препарату «Вермібак-плюс» у добових дозах як 10,0 мг/кг так і 7,0 мг/кг маси риб спостерігається його лікувальна ефективність. Аналогічний результат спостерігали і у групах риб, яким задавали препарати «Флосан» та «Флорон» у дозах, рекомендованих виробниками. У той же час у риб першої контрольної групи спостерігались класичні клінічні ознаки аеромонозу – куйовдження луски, екзофтальмія, асцит. При цьому, в результаті мікробіологічних досліджень у риб цих груп був реізолюваний штам *Aeromonas hydrophila* K5-06.

Отже, за експериментального аеромонозу риб терапевтична ефективність препарату «Вермібак-плюс» спостерігалась при застосуванні його протягом семи діб у добовій дозі 7,0 мг/кг маси (за ДР), що на 30 % нижче дози, декларованої виробниками інших протимікробних засобів з аналогічної діючої речовиною – «Флосан» та «Флорон».

Виробниче випробування препарату «Вермібак-плюс» було проведено в умовах риборівницького господарства, розташованого на території Харківської області. Спалах захворювання риб на аеромоноз був зареєстрований у липні у чотирьох нерестових ставках площею по 0,2 га, де утримували дволіток коропа із щільністю посадки 3 тис.шт./га. На час спалаху у ставках знаходилось по 0,07 т коропа, 0,03 т товстолобика. Клінічно захворювання проявлялось у 24 % риб: спостерігалось куйовдження луски, екзофтальмія, осередкове почервоніння шкіри, здуття черевця. Діагноз був підтверджений результатами лабораторних досліджень – був виділений ізолят збудника, що відноситься до роду *Aeromonas*.

Умовно рибу було розділено на три групи (у відповідності до кількості ставків, де реєстрували захворювання). Експериментальний зразок протимікробного препарату «Вермібак-плюс» задавали рибі I-групи у суміші із зволженим комбікормом протягом семи діб, риbam II-групи задавали препарат «Флорон» (фірми KRKA d.d., Словенія) у суміші із зволженим комбікормом також протягом семи діб; риbam III-групи протимікробний засіб не задавали. У ставках, де утримувалась риба проводили контроль гідрохімічного режиму. На період лікування норми годівлі були зменшені на 40 %. Через сім діб після закінчення досліду було проведено бактеріологічні дослідження риб на наявність збудника інфекції, в результаті чого у риб першої і другої групи збудника ізолювано не було, а у риб третьої групи було виділено збудника аеромонозу, при цьому кількість риб з клінічними ознаками зросла до 42 %. Отже, ефективність препаратів «Флорон» та «Вермібак-плюс» складала 100%.

Висновки. Розроблено лікарську форму протимікробного засобу на основі флорфеніколу із природним сорбентом вермикулітом – «Вермібак-плюс». Терапевтична ефективність препарату спостерігається при застосуванні його у дозі 7 мг/кг маси (за ДР) протягом семи діб. Результати проведених виробничих випробувань експериментальної серії препарату «Вермібак-плюс» свідчать про те, що він не поступається за ефективністю імпортованим препаратам і звільняє організм риб від інфекції вже через сім діб від початку лікування.

Список літератури

1. Austin B., Hayden C., Beucher E., *Pseudomonas* associated with disease aquaculture in Poland //Dis. Aquatic Org.–2007. – Vol 45.– P. 134-139
2. Kozinska A., MazurW., Paszowska K. Cases of bacterial disease in fish cultured in Poland //Veterinary Medicine.–2008.–Vol. 67(5)– 254-260
3. Методичні рекомендації щодо діагностики аеромонозів риб / Б.Т. Стегній [та ін.]. – Х.: «Самміт-Харків» – 2008. 44 с.
4. Трифонова Е.С., Бычкова Л.И., Юхименко Л.М. Профилактика и лечение бактериальных заболеваний рыб в рыбоводстве //Прудовое хозяйство.–2005.–№6.– С. 32-35
5. Головина П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н., Кадастр лечебных препаратов, используемых и апробированных в аквакультуре России и за рубежом.М.: ФГНУ«Росинформагротех», 2005.–54 с.

**ASSESSMENT OF THERAPEUTIC EFFICIENCY ANTIMICROBIAL PREPARATIONS
«VERMIBAC-PLUS» FOR THE TREATMENT OF AEROMONOSIS FISH****Yevtushenko A. V., Yevtushenko I. D.***National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine***Volovik T. P., Zboghinska O. V.***Rivne Experimental Station, Rivne*

Aim of this work was to develop a dosage form of antimicrobial preparations based florfenicol with natural sorbent vermiculite («Vermibak Plus»), to determine its therapeutic dose for of Aeromonas infection carp, do the research a comparative assessment of therapeutic efficacy of other antimicrobial preparations to test an experimental preparations series «Vermibak Plus» in production.

Materials and Methods. Experimental studies were performed on scaly carp, two years of age. Infected fish pathogen of Aeromonas with the use Aeromonas hydrophila strain K5-06. Have been conducted three series of experiments: on the first stage of determining the optimal composition therapeutic agent, on the second stage was carried out a comparative analysis of the effectiveness of existing therapeutic agents, in the third stage carry out the tests the preparations in a production environment.

Results. The results of the first series of experiments proved most perspective form of the preparations which included florfenicol 4 % and vermiculite 96 % («Vermibak Plus»). The results of the second series of experiences showed therapeutic dose «Vermibak Plus» was 30% lower dose (by DS), other antimicrobial preparations with similar for the same active substance – preparations «Flosan» and «Floron». By results of of the third series of experiments efficacy «Vermibak Plus» was 100% for of the spontaneous of Aeromonas infection of carp in a production environment fish farms.

Conclusions. Developed by antimicrobial preparation dosage form based florfenicol with natural sorbent vermiculite – preparation «Vermibak-plus». Therapeutic efficacy is observed at a dose of 7 mg/kg (for DS) for seven days. Results of production testing an experimental preparation series «Vermibak Plus» indicate that that he is not inferior to imported preparation efficiency and relieve organism of fish from infection after seven days of treatment.

Keywords: aeromonady, vermiculite, florfenicol, fish and therapeutic efficacy

УДК: 619:616.98:579.873.21:636

**ВИВЧЕННЯ СЕНСИБІЛІЗУЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АТИПОВИХ
МІКОБАКТЕРІЙ, ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ БІОМАТЕРІАЛУ
ВІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ТА З ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ****Завгородній А. І., Білушко В. В.***Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: bw.pochta@gmail.com***Загребельний В. О.***Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветсанекспертизи,
м. Київ, Україна, e-mail: zvo1@i.ua***Балим Ю. П.***Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна*

У статті наведено результати досліджень з вивчення сенсibilізуючих властивостей культур атипovих мікобактерій, які були виділені та ідентифіковані з біологічного матеріалу від великої рогатої худоби та з об'єктів навколишнього середовища утримання тварин.

Ключові слова: атипovі мікобактерії, велика рогата худоба, сенсibilізація, неспецифічні реакції

Відомо, що сенсibilізацію у великої рогатої худоби до туберкуліну (ППД) для ссавців зумовлюють як збудники туберкульозу, так і непатогенні атипovі мікобактерії, яких в Україні ідентифіковано 18 видів (II, III і IV група за класифікацією Раньона). Усього у світі ідентифіковано, на сьогодні, понад 300 видів мікобактерій [1, 2]. Атипovі мікобактерії значно поширені у довкіллі, що зумовлює їх убиквітарність у навколишньому середовищі та живому організмі. Недивлячись на велику кількість інформації, залишаються не до кінця з'ясованими питання щодо сенсibilізації великої рогатої худоби атипovими мікобактеріями, що призводить до виникнення масових неспецифічних реакцій на туберкулін у тварин [3]. У господарствах різних регіонів і природно-кліматичних зон України