

Ю. В. ЛОБОЙКО, кандидат сільськогосподарських наук

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

А. В. БЕРЕЗОВСЬКИЙ, доктор ветеринарних наук

ТзОВНВФ „Бровафарма”, м. Бровари, Київська обл.

В. В. СТИБЕЛЬ, доктор ветеринарних наук

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

В. В. ПАРЧЕНКО, кандидат фармацевтичних наук

Запорізький державний медичний університет

З’ЯСУВАННЯ ЕФЕКТИВНІСТІ КОМПЛЕКСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ „БРОВЕРМЕКТИН-ГРАНУЛЯТУ™” ТА ІМУНОМОДУЛЯТОРА „АВЕССТИМ™” ЗА ЛЕРНЕОЗНОЇ ІНВАЗІЇ КОРОПА ТА ЇХ ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ РИБ

З’ясовано, що комплексне застосування імуномодулятора „Авесстим™” та антипаразитарного препарату „Бровермектин-гранулят™” за лернеозу коропа, забезпечувало знищення збудників інвазії, активізацію імунної системи, швидке відновлення ушкоджених тканин, покращення показників гемодинаміки, обміну речовин і загального стану організму риб.

*Ключові слова: короп, ектопаразити, „Бровермектин-гранулят”, „Авесстим”, *Lernaea cyprinacea*.*

Значних збитків при вирощуванні коропових риб завдають ектопаразитарні хвороби, які погіршують фізіологічний стан риб. Внаслідок цього знижуються економічні показники господарської діяльності рибницьких підприємств, зменшується вихід риби від посадки на вирощування, сповільнюються темпи її росту. Тому, важливою ланкою у технології товарного рибництва є організація і ведення постійного контролю за станом вирощуваних риб та вживання своєчасних лікувально-профілактичних заходів. Вирощування фізіологічно повноцінної, здорової риби за належних санітарних умов є запорукою успішної діяльності рибницьких господарств [1].

Враховуючи потребу у розширенні асортименту антипаразитарних препаратів для лікування риб, які б мали більш високу ефективність, менший токсичний вплив на організм та вартість лікувальної обробки, було проведено серію дослідів з визначення можливості застосування у рибництві препарату бровермектин-гранулят з діючою речовиною івермектин [2].

Відомо, що антипаразитарні препарати не лише негативно впливають на паразитів, але й одночасно здійснюють несприятливий, подразнюючий вплив на організм риб, підданих обробці, при цьому більшість з них проявляють супресивну дію. Водночас, ектопаразити володіють сильною імунодепресивною дією, їх присутність зумовлює імунодефіцитний стан в організмі риб, що виявляється в порушенні обмінних процесів в організмі, наслідком яких спостерігається зни-

ження продуктивності і навіть загибель риби. Для усунення негативного впливу доцільне застосування імуностимуляторів, які дозволяють добитися не лише зростання ефективності терапії, а й підвищити імунний статус й резистентність організму риб [3].

Мета роботи – з’ясувати ефективність комплексної терапії лернеозу коропа шляхом застосування антипаразитарного препарату „Бровермектин-гранулят[™]” та імуномодулятора „Авесстим[™]” і визначення їх впливу на морфологічні та біохімічні показники крові й рівень природної резистентності риб, інвазованих *Lernaea cyprinacea*.

Матеріал і методи дослідження. Матеріалом для дослідження були однорічні любінського лускатого коропа масою 53–55 г, з яких 6 екз. були клінічно здоровими (контроль) та 18 екз. (дослід) – спонтанно інвазовані *Lernaea cyprinacea*. За результатами визначення рівня інвазованості останніх, їх розділили на три аналогічні групи (n=6). Всі риби контролю були уражені *Lernaea cyprinacea* з інтенсивністю інвазії від 0,11 до 0,26 лерней на 1 г м.т.

Риб всіх груп утримували у 4-х акваріумах ємністю 40 дм³ із штучною аерацією за температури 18–20°C. Догляд та годівлю їх проводили згідно відповідних норм та раціонів. Впродовж усього періоду досліджень проводили спостереження за поведінкою та клінічним станом риб.

Переддослідний період акліматизації риб становив 14 діб. Для досліду використали розробки НВФ „Бровафарма”, а саме:

- „Бровермектин-гранулят[™]” серійного виробництва, який в 1 г містить АДР івермектин – 3,5 мг і токоферол ацетат – 20 мг;

- „Авесстим[™]”, це експериментальний препарат у вигляді порошку, який в 1 г містить АДР морфоліній 2-[5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо]ацетат – 10 мг. Дану сполуку було синтезовано в лабораторії кафедри токсикологічної і неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету.

Введення препаратів проводили 2 рази на добу дві доби поспіль. Для цього визначену дозу препаратів вносили до 1 мл 2% крохмального клейстеру, а саме: для дослідної групи №2 – „Бровермектин-гранулят[™]” – 60 мг/кг маси тіла; для дослідної групи №3 – „Бровермектин-гранулят” – 60 мг та „Авесстим[™]” – 1 мг/кг маси тіла риби. Рибам контрольної групи та дослідної групи №1 водночас вводили лише по 1 мл 2% клейстеру.

Іхтіопаразитологічний аналіз проводили за методом неповного паразитологічного розтину за І.Є. Биховською-Павловською [4]. Видову належність паразитів визначали за „Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР” [5].

Інтенсивність інвазії (II) визначали шляхом підрахунку кількості паразитів на тілі досліджуваної риби.

На 14-добу по закінченню введення препаратів провели паразитологічний огляд риб та видів проб крові для досліджень. Кров відбирали з серця риб одноразовим шприцом із ін’єкційною гепаринізованою голкою. При цьому на 1,0 мл крові використовували 0,01 мл гепарину.

Підрахунок кількості еритроцитів і лейкоцитів у суспензії крові здійснювали на сітці лічильної камери Горяєва. Концентрацію гемоглобіну визначали уніфікованим гемоглобін-ціанідним методом. Гематокритну величину визначали на мікроцентрифузі гематокритній МЦГ-8 [6].

У дослідженнях використовували зразки гепатопанкреаса, одержані від однорічок клінічно здорових та інвазованих коропів. Відібрані зразки тканин заморожували в рідкому азоті і визначали в них вміст діє нових кон'югатів [7], продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-продуктів) [8], активність актиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази [9] та каталази [10]. У крові риб досліджували бактерицидну [11], лізоцимну [12] та фагоцитарну [13] активність.

Результати досліджень. В ході паразитологічного огляду риб дослідних груп встановлено, що в групах №2 та №3 збудників інвазії та клінічних ознак лернеозу не виявили. В групі одна картина відповідала такій, що була на початку досліду.

За вивчення патогенної дії лернейта досліджуваних препаратів на організм однорічок коропа нами встановлено, що кількість еритроцитів була меншою, порівняно до контролю, у риб 1-ї та 2-ї дослідних груп 1,3 рази ($P < 0,01$), ($P < 0,05$) відповідно (табл.1).

Таблиця 1

Гематологічні показники інвазованих *Lernaea cyprinacea* однорічок коропа після застосування препаратів ($M \pm m$, $n=6$)

Показники	Групи риб			
	Контроль	Дослід №1	Дослід № 2	Дослід №3
		0,11-0,26 екз./г м.т.	Бровермектин-гранулят™	Бровермектин-гр. +Авесстим™
Еритроцити, Т/л	1,24±0,05	0,95±0,07**	0,97±0,10*	1,17±0,06
Гемоглобін, г/л	85,65±3,08	75,90±2,94*	76,46±3,05	83,74±4,05
Гематокрит, л/л	0,27±0,008	0,23±0,004**	0,24±0,007*	0,26±0,006
Лейкоцити, G/л	27,32±1,17	39,44±2,36***	34,54±2,64*	29,52±2,78

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$.

Поряд із зниженням кількості еритроцитів зменшувався вміст гемоглобіну крові коропів. У 1-й дослідній групі вміст гемоглобіну крові становив 75,90±2,94 проти 85,65±3,08 г/л у контролі ($P < 0,05$). У 2-й дослідній групі вміст його зменшувався у 1,1 раз.

Така ж тенденція до зниження показника гематокриту спостерігалася у риб 1-ї та 2-ї дослідних груп, а саме у 1,2 рази ($P < 0,01$) та 1,1 рази ($P < 0,05$), відповідно.

Значні зміни білої крові у дослідних групах проявлялися зростанням кількості лейкоцитів. Вірогідно високий рівень лейкоцитів, порівняно до контролю, був встановлений у риб 1-ї та 2-ї дослідних груп, відповідно у 1,4 ($P < 0,001$) та 1,3 рази ($P < 0,05$).

У риб дослідної групи №3, за застосування препарату „Бровермектин-гранулят™” в комплексі з імуномодулятором „Авесстим™” вірогідних змін показників крові у порівнянні до контролю не спостерігали.

У процесі окиснення енергетичних субстратів аеробним шляхом в організмі тварин, у тому числі у риб, утворюються активні форми кисню (АФК), які окислюють поліненасичені жирні кислоти, що входять у склад фосфоліпідів мембран клітин, перекисним шляхом. Утворені продукти перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) піддають деструкції клітинні мембрани і біополімери (білки, нуклеїнові кислоти). Це призводить до утворення інших вільних радикалів, які проявляють деструктивну дію на мембрани і внутрішньоклітинні біополімери.

Зокрема, вміст діє нових кон'югатів у досліджуваних тканинах гепатопанкреасу однорічок коропа 1-ї та 2-ї дослідних груп був вірогідно вищим, ніж у тканинах здорових риб у 1,4 ($P < 0,01$) та 1,1 рази до групи №3 (табл. 2). Водночас спостерігали підвищення вмісту ТБК-продуктів. Вміст їх у печінці однорічок коропа 1-ї й 2-ї груп був вищим, відповідно, в 1,7 ($P < 0,05$) та 1,4 рази до групи №3.

Таблиця 2

Продукти ПОЛ та активність антиоксидантних ферментів у печінці інвазованих *Leizaes sarginaea* однорічок коропа після застосування препаратів ($M \pm m$, $n=6$)

Показники	Групи риб			
	Контроль	Дослід №1	Дослід №2	Дослід №3
		0,11-0,26 екз./г м.т.	Бровермектин-гранулят™	Бровермектин- гр. +Авесстим™
Білок, г/%	40,24±2,55	33,22±2,35	35,84±2,44	39,84±2,64
ТБК–продукти, нмоль/мг білка	5,47±1,03	9,42±0,04*	7,65±1,16	5,84±1,12
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	1,72±0,16	2,45±0,12**	1,95±0,17	1,64±0,42
Супероксид-дисмутаза, у.о./ мг білка	5,24±0,25	3,84±0,18**	4,12±0,26*	5,62±0,36
Каталаза ммоль H_2O_2 /мг білка зах* 10^{-5}	1,62±0,05	1,57±0,11	1,64±0,12	1,68±0,04

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$.

Стимулюючи дію різних чинників, у тому числі імуномодуляторів, в організмі риб певною мірою характеризує вміст продуктів ПОЛ у тканинах. Наведені дані свідчать, що застосування імуномодулятора „Комбістим” у однорічок коропа призводить до зниження утворення продуктів ПОЛ, які впливають на клітинний метаболізм і призводять до дисфункції і патологій.

Внаслідок еволюції в організмі риб сформувалися спеціальні механізми захисту від деструктивної дії продуктів ПОЛ, які отримали назву антиоксидантної системи, її роль полягає в регуляції інтенсивності утворення АФК та знешкодженні продуктів ПОЛ. Як і у ссавців, система антиоксидантного захисту в організмі риб охоплює ферментну і неферментну ланки. До ферментної ланки належать ферменти супероксиддисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза, каталаза.

Проведені нами дослідження, результати яких наведені у таблиці 2, показали, що активність СОД у гепатопанкреасі риб 1-ї та 2-ї дослідних груп була

вірогідно нижча, порівняно до контрольної групи, у 1,4 ($P < 0,01$) та 1,3 ($P < 0,05$) рази до дослідної групи №3, відповідно. На відміну від СОД, активність каталази у гепатопанкреасі коропа вірогідно не змінювалася.

Бактерицидна активність сироватки крові (БАСК) є інтегральним фактором природної резистентності організму гуморального типу і свідчить про здатність крові до самоочищення. Вона зумовлена наявністю у сироватці крові комплексу речовин: комплементу, антитіл, лізоциму, пропердину, здатних знешкоджувати, або нейтралізувати мікробні клітини.

З даних наведених у таблиці 3 видно, що лізоцимна і бактерицидна активність сироватки крові та фагоцитарна активність нейтрофілів у крові риб 1-ї та 3-ї дослідних груп була нижчою, ніж у риб контрольної групи, проте лише окремі з різниць статистично вірогідні. Зокрема, спостерігали вірогідне зниження фагоцитарної активності у 1-й та 2-й дослідних групах у 1,1 рази ($P < 0,05$). При цьому відмічали вірогідне зниження фагоцитарного числа у цих же групах у 1,6 ($P < 0,01$) та 1,5 рази ($P < 0,01$).

Таблиця 3

Показники неспецифічної резистентності у крові інвазованих *Lernaea cyprinacea* однорічок коропа після застосування препаратів ($M \pm m$, $n=6$)

Показники	Групи риб			
	Контроль	Дослід №1	Дослід №2	Дослід №3
Лізоцимна активність, %	38,26±2,02	0,11-0,26 екз./г м.т.	Бровермектин-гранулят™	Бровермектин-гр. +Авесстим™
Лізоцимна активність, %	38,26±2,02	36,22±2,18	37,65±2,05	39,12±2,21
Бактерицидна активність, %	29,26±2,06	25,64±1,52	26,32±2,18	30,67±2,74
Фагоцитарна активність, %	40,18±1,79	35,52±1,64*	35,17±1,35*	40,82±1,44
Фагоцитарний індекс, од.	10,08±0,65	9,12±0,87	10,12±0,91	9,04±0,78
Фагоцитарне число, од.	5,38±0,42	3,28±0,22**	3,62±0,33**	4,92±0,35

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$.

Висновки.

1. Препарат „Бровермектин-гранулят™” в дозі 60 мг введеної 4 разі з 12-годинним інтервалом виявив 100% ефективність стосовно збудників леннегіозу.

2. Комплексне застосування препарату „Бровермектин-гранулят™” та імуномодулятора „Авесстим™” за лернеозу коропа сприяє активізації імунної системи, прискоренню відновлення ушкоджених клітин і тканин, покращенню показників гемодинаміки, обміну речовин і загального стану організму риб.

Перспективи подальших досліджень. У зв'язку з одержаними результатами, виникає потреба дослідити ефективність пропонованої схеми у виробничому досліді.

Список використаної літератури

1. Беліба В. Г. Паразитофауна риб природних та штучних водойм Харківської обл. / В. Г. Беліба // Ветеринарна медицина. Міжвідм. темат. наук. зб. – Х., 2006. – № 86. – С. 30–39.
2. Лобойко Ю. В. Ефективність застосування бровермектин-грануляту^{™™™} за лернеозної інвазії коропа та його вплив на гематологічні показники риб / Ю. В. Лобойко, А. В. Березовський, В. В. Стибель // Ветеринарна медицина. Міжвідм. темат. наук. зб. – Х., 2011. – № 95. – С. 366–367.
3. Биологические препараты и химические вещества в аквакультуре / [Давыдов О. Н., Абрамов А. В., Куровская Л. Я. и др.]; под ред. Н. С. Мандыгры. – К.: Логос, 2009. – 307с.
4. Быховская-Павловская Е. И. Паразиты рыб. Руководство по изучению / Е. И. Быховская–Павловская. – Л.: Наука, 1985. – 121 с.
5. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР: В 3-х томах./ Под ред. О. Н. Бауера. – Ленинград: Наука, 1987. – Т. 3: Паразитические многоклеточные. – Ч.2. – 584 с.
6. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / [Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др.]; Под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Стальная И. Д. О пределе диеновых конъюгатов / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии; Под ред. В. Н. Ореховича. – М: Медицина, 1977. – С. 63–64.
8. Коробейникова Е. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Е. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
9. Дубинина Е.Е. Активность и коферментный спектр СОД эритроцитов / Е.Е. Дубинина, Л.Я. Сальникова, Л.Ф. Ефимова // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30–33.
10. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16–18.
11. Новикова Л. В. Иммунологические методы исследования / Л. В. Новикова, К. М. Лебедева, Э. М. Яковлева. – Саранск, 1981. – 92с.
12. Дорофейчук В. Г. Лизоцимная активность сыворотки крови / В. Г. Дорофейчук // Лаб. дело. – 1968. – № 1. – С. 28–34.
13. Чумаченко В. Е. Определение естественной резистентности и обмела веществ у сельскохозяйственных животных / В. Е. Чумаченко. – К.: Урожай, 1990. – 136 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ „БРОВЕРМЕКТИН-ГРАНУЛЯТА^{™™™}” И ИМУНОМОДУЛЯТОРА „АВЕССТИМ^{™™™}” ПРИ ЛЕРНЕОЗНОЙ ИНВАЗИИ КАРПА И ИХ ВЛИЯНИЯ НА ОРГАНИЗМ РЫБ / Ю. В. Лобойко, А. В. Березовский, В. В. Стибель, В. В. Парченко

В ходе проведенного опыта установлено, что комплексное применение иммуномодулятора „Авесстим^{™™™}” и антипаразитарного препарата „Бровермектин-гранулят^{™™™}” при лернеозе карпа, обеспечивало 100% ликвидацию возбудителей инвазии, активизацию иммунной системы, быстрое восстановление пора-

женных участков кожного покрова, стабилизацию показателей гемодинамики, обмена веществ и общего состояния организма рыб.

Ключевые слова: карп, эктопаразиты, „Бровермектин-гранулят^{тм}“, „Авесстим^{тм}“, Lernaеасурпinaсеа.

DEFINING OF THE EFFECTIVENESS OF "BROVERMECTIN GRANULATE" AND IMMUNE MODULATOR "AVESSTIM" COMPLEX APPLICATION AGAINST LERNAEA INVASION OF CARP AND THEIR INFLUENCE ON FISH / Y. V. Loboiko, A. V. Berezovskij, V. V. Stybel, V. V. Parchenko

In the course of the experiment it is established that the combined use of the immune modulator "Avesstim" and the antiparasitic drug "Brovermectin granulate" against lerneosis of carp provided 100% elimination of pathogens invasion, immune system activation, a quick recovery of damaged skin, stabilization of hemodynamic indicators, metabolic process and general state of fish.

Keywords: carp, ectoparasites, "Brovermectin granulate", "Avesstim", Lernaеасурпinaсеа.

Рецензент – доктор біологічних наук К. В. Секретарюк