

## ВЛИЯНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО И ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТОВ НА СПЕЦИФИЧЕСКИЙ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ ИММУНИТЕТ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ РЫБ

Т. А. Суворова, Н. И. Силкина

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: tanya@ibiw.yaroslavl.ru

Проведено сравнительное исследование влияния антибактериального и пробиотического препаратов на динамику антителообразования, уровень бактериостатической активности сыворотки крови, интенсивность перекисного окисления липидов и общую антиокислительную активность тканей иммунокомпетентных органов карпов *Cyprinus carpio* L. Отмечена способность пробиотика индуцировать специфическую защитную реакцию иммунной системы, а антибиотика – неспецифическую. Применение препаратов усиливало пероксид-генерирующие процессы и изменение интегрального показателя антиокислительной защиты. Выявлена зависимость происходящих процессов от типа препарата и особенностей структурно-функциональной организации органов.

**Ключевые слова:** рыбы, иммунитет, перекисное окисление липидов, общая антиокислительная активность, Антибак 100, СУБ-ПРО.

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10020

### ВВЕДЕНИЕ

Концепция развития рыбохозяйственного комплекса Российской Федерации до 2020 г. и далее, предусматривает многократное увеличение производства рыбной продукции на основе интенсификации процессов воспроизводства рыб в условиях аквакультуры (Федеральный закон об аквакультуре № 148 от 02.07.2013; Постановление Правительства РФ № 134 от 15.04.2014). Однако используемые для этого уплотнённые посадки и обильное кормление приводят к накоплению органических веществ в водоёме, нарушению термического и газового режимов, дефициту кислорода, что способствует ослаблению защитных систем организма и вспышкам массовых заболеваний [Остроумова, 2001 (Ostroumova, 2001); Головина, 2003 (Golovina, 2003); Бурлаченко, 2007 (Burlachenko, 2007); Грищенко, Акбаев, 2013 (Grishchenko, Akbaev, 2013)]. Поэтому важное прикладное значение имеет совершенствование существующих и создание новых способов лечения объектов аквакультуры. В настоящее время для лечения бактериальных болезней в рыбоводстве используют

антибиотики и химиопрепараты, а для повышения устойчивости к инфекциям – пробиотические препараты на основе бактерий, обладающих антагонистическим действием в отношении возбудителей заболевания. Среди специалистов, работающих в сфере аквакультуры, превалирующим является мнение, что антибактериальные средства являются мощными иммуносупрессорами в противоположность активным иммуностимуляторам – пробиотикам [Юхименко и др., 2003 (Yuhimenko et al., 2003); Бычкова и др., 2008 (Bychkova et al., 2008)]. При этом, экспериментальные данные по влиянию антибактериальных и пробиотических препаратов на различные факторы иммунитета рыб носят противоречивый и не всегда доказательный характер.

Цель работы – проведение сравнительного исследования влияния антибактериального и пробиотического препаратов на некоторые иммунологические и биохимические показатели рыб.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в аквариальной лаборатории иммунологии ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН. Объектами исследования служили клинически здоровые годовики карпа *Cyprinus carpio* L. средней массой  $150 \pm 10$  г, доставленные из ООО “Рыбхоз Нарские острова” Московской области. Рыб после акклимации содержали в принудительно аэрируемых аквариумах при температуре воды  $18 \pm 1 - 2^\circ\text{C}$ . Основные гидрохимические параметры соответствовали

рыбохозяйственным нормативам [Отраслевой стандарт. Охрана природы... (Industry standard. Protection of nature ...); Отраслевой стандарт. Показатели... (Industry standard. Indicators...)]. В качестве антибактериального препарата использовали Антибак 100 для карповых рыб на основе ципрофлоксацина серия 020809 (ООО “НВЦ Агроветзащита С.-П.”, г. Сергиев Посад), а в качестве пробиотика – СУБ-ПРО на основе *Bacillus subtilis* серия 00409 (ООО “Вектор-Евро”, г. Москва), широко

использующиеся в рыбоводной практике. Комбикорма с препаратами приготавливали в лабораторных условиях на основе полноценного гранулированного корма для декоративных прудовых рыб Tetra Pond. На гранулы наносили желатиновую суспензию препарата с последующим подсушиванием. Внесенный корм рыбы съедали в течение нескольких минут, что в сочетании с описанным методом его приготовления практически исключало потерю действующего вещества за счет вымывания в воду. Нормы кормления составляла 5% от общей живой массы рыбы. Из карпов было сформировано 4 группы (по 15 экз. каждая), которых поместили в отдельные аквариумы. Первая группа служила контролем – пробы отбирали до опыта, 2-я группа получала добавку препарата Антибак 100 в дозе 0.5 г/кг икhtiомассы, с содержанием действующего вещества ципрофлоксацина 100 мг/г, 3-я группа – добавку СУБ-ПРО. Лечебные корма с вышеуказанными препаратами рыбы получали в течение 5 сут в дозировках согласно инструкциям. При исследовании иммунологических показателями дополнительно 4-ую группу заражали 1 млрд. микробных тел агаровой культуры *Aeromonas hydrophila* на особь путём внутрибрюшинной инъекции, оценивая способность рыб формировать специфический иммунный ответ на бактериальный антиген. Отбор материала производили через 1, 3 и 7 суток после окончания дачи препаратов. Из каждой опытной группы отбирали по 5 особей для исследования. Оценку иммунобиохимического состояния организма рыб проводили по динамике антителообразования, уровню бактериостатической активности сыворотки крови (БАСК), интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общей антиокислительной активности (ОАА).

Содержание антител в сыворотке крови определяли реакцией агглютинации по методу Г.Д. Гончарова (1973). Результаты оценивали по 4-балльной шкале.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунитет (от лат. Immunitas – освобождение от чего-либо) – состояние невосприимчивости организма к воздействию болезнетворных агентов, продуктов их жизнедеятельности, а также генетически чужеродных веществ, обладающих антигенными свойствами. Различают врождённый (неспецифический) и приобретённый (специфический) иммунитет.

**Влияние на специфический иммунитет.** Приобретённый иммунитет

Бактериостатическую активность сыворотки крови оценивали фотонейфелометрическим колориметрированием согласно методике, описанной О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой (1966) для теплокровных животных и адаптированной для рыб [Микряков и др., 1991 (Mikryakov et al., 1991)].

Интенсивность ПОЛ в тканях оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) – одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов. Концентрацию МДА определяли в гомогенатах тканей на основе учета количества продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой и дающих с ней окрашенный комплекс. Интенсивность окрашивания оценивали спектрофотометрически по изменению максимума поглощения при 535 нм. Содержание МДА вычисляли с учетом коэффициента молярной экстинкции  $1.56 \times 10^5 / (\text{M}^{-1} \text{ см}^{-1})$  и выражали в наномолях на 1 г ткани [Андреева и др., 1988 (Andreeva et al., 1988)].

Об уровне антиокислительной защиты судили по кинетике окисления субстрата – восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха по общепринятой методике [Семёнов, Ярош, 1985 (Semenov, Yarosh, 1985)], адаптированной нами для рыб. Сущность метода заключается в том, что чем выше скорость окисления субстрата в присутствии биологического материала, тем ниже содержание в тканях антиоксидантов. Гомогенат получали путем растирания тканей с физиологическим раствором в соотношении 1:1. Коэффициент ингибирования окисления (КОС) определяли относительно контроля по формуле:  $\text{КОС} = (\text{K}_{\text{кон}} - \text{K}_{\text{оп}}) / \text{C}$ , где  $\text{K}_{\text{кон}}$  и  $\text{K}_{\text{оп}}$  – константы скоростей окисления субстрата соответственно в контроле и опыте;  $\text{C}$  – концентрация биологического материала в кювете.

При статистической обработке данных вычисляли средние значения и их ошибку. Достоверность различий оценивали при  $p \leq 0.05$ .

высокоспецифичен в отношении каждого конкретного возбудителя. Основная роль в реализации функций защиты от “чужого”, сохранении иммунологической “памяти” среди гуморальных факторов иммунитета принадлежит антителам – иммуноглобулинам, снабжённым специфическими рецепторами к антигену. Иммуноглобулины образуются в организме в результате естественного переболевания, вакцинации, контакта

лимфоидной системы с чужеродными клетками или тканями (трансплантаты) либо с собственными аутоантигенами. Иммуноглобулины в организме рыб синтезируются плазматическими клетками (В-лимфоцитами) и секретируются в кровь или тканевые жидкости.

Уровень антител у карпов в титрах разведения сыворотки крови

Antibody level in carps in serum dilution titers

Время отбора / Selection time	Группа № 1 Контроль / Group № 1 Control	Группа № 2 Антибак 100 / Group № 2 Antibuck 100	Группа № 3 СУБ-ПРО / Group № 3 SUB-PRO	Группа № 4 Иммунизация / Group № 4 Immunization
1 сут / 1 day	0	0	1:80	0
3 сут / 3 day	0	0	0	0:320
7 сут / 7 day	0	0	1:40	0:640

У рыб 1-й и 2-й групп выработки антител зафиксировано не было, а в группе № 3 отмечен незначительный уровень синтеза антител. Это свидетельствует о том, что СУБ-ПРО обладает антигенными свойствами и способен индуцировать специфическую защитную реакцию иммунной системы, что, возможно, вызвано живой микробной массой сеной палочки *Bacillus subtilis*, составляющей основу препарата. Введение бактериального антигена группе № 4 инициировало характерную для нормального иммунного ответа динамику образования антител [Лукьяненко, 1989 (Lukyanenko, 1989); Anderson, 1974].

**Влияние на неспецифический иммунитет.** Врождённые факторы защиты в организме выполняют функции нейтрализации и лизиса чужеродных тел. Интегрированным выражением противомикробных свойств гуморального звена неспецифического иммунитета служит БАСК. Этот показатель отражает функционирование всего комплекса механизмов естественного иммунитета (системы комплемента, пропердина, иммуноглобулинов, лизоцима, протеасом, С-реактивного белка, бактериолизина и т.д.), заражённость и устойчивость к паразитам и физиолого-биохимический статус организма рыб. Антимикробный эффект сыворотки крови зависит от условий нагула, обеспеченности пищей и её состава. В настоящее время БАСК широко применяется при оценке последствий влияния паразитарных и токсических агентов на естественную резистентность и иммунный статус [Лукьяненко, 1989 (Lukyanenko, 1989); Микряков и др., 2001 (Mikryakov et al., 2001); Soltani et al., 2003].

Уровень БАСК изменялся под влиянием препаратов и бактериального антигена (рис. 1).

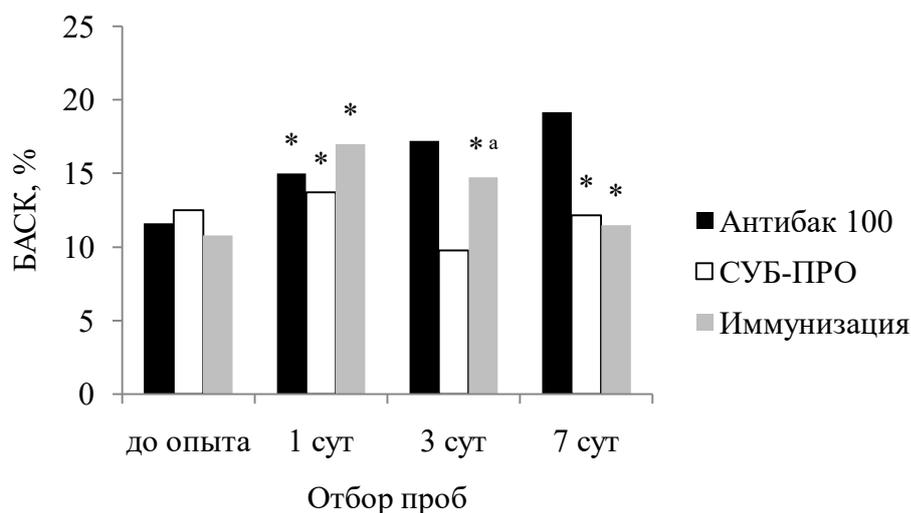
Полученные данные показали различия синтеза антител в опытных группах (см. таблицу).

Введение Антибак 100 в корм рыбам группы № 2 усиливало протективные свойства сыворотки крови (рис. 1).

Максимальных значений БАСК достигала на 7 сут после кормления. Полученные нами данные согласуются с имеющимися литературными источниками [Виолин и др., 2001 (Violin et al., 2001); Гаврилин, 2002 (Gavrilin, 2002)], в которых описана способность ципрофлоксацина оказывать неспецифическое стимулирующее действие на иммунную систему теплокровных животных и рыб.

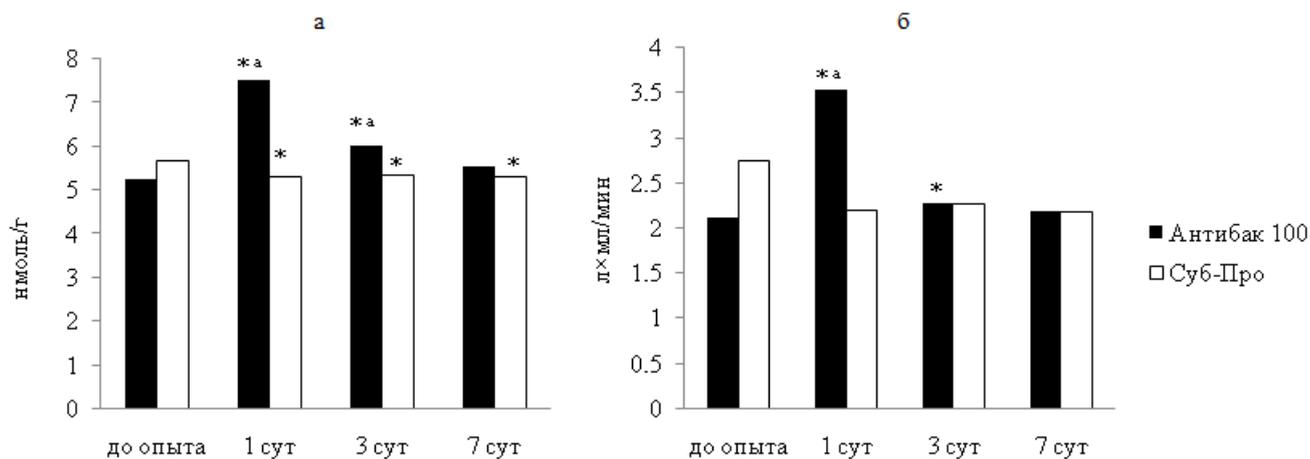
Считается, что механизм действия пробиотика заключается в колонизации кишечника полезными микроорганизмами [Грозеску и др., 2009 (Grosescu et al., 2009)] и их положительном влиянии на иммунную систему [Склярков и др., 2004 (Sklyarov et al., 2004)]. Однако, вместо ожидаемого длительного эффекта, иммуностимулирующее действие СУБ-ПРО оказалось менее выраженным, чем у антибиотика (рис. 2). Вероятно, это объясняется тем, что пробиотики не становятся членами нормальной микрофлоры и достаточно быстро выводятся из организма [Galdeano, Perdigon, 2004]. Фторхинолоны имеют высокую биоаккумуляционную способность хорошо проникать в ткани и биологические жидкости и медленно выводятся из организма [Гончарова, Енгашев, 2003 (Goncharova, Engashev, 2003)].

В группе № 4 бактериостатическая активность сыворотки максимально проявлялась через сутки и затем постепенно снижалась. Это связано с тем, что на начальном этапе заражения включался неспецифический иммунный ответ. В дальнейшем начинался синтез антител и основную защитную функцию выполняли антитела.



**Рис. 1.** Уровень БАСК, %.. Здесь и далее на рисунках: “\*” – достоверные отличия от контрольных данных до опыта; а – достоверные отличия от группы 3 (СУБ-ПРО).

**Fig. 1.** The level of BAS, %. Hereinafter in the figures: “\*” – significant differences from control; a – significant differences from group 3 (SUB-PRO).



**Рис. 2.** Содержание МДА (а) и уровень КОС (б) в печени.

**Fig. 2.** The content of MDA (a) and the level of KOC (b) in the liver.

#### Влияние на окислительные процессы.

Перекисное окисление липидов протекает как цепной экзотермический химический процесс окислительной модификации нейтральных липидов и фосфолипидов. Антиокислительная защита осуществляется антиоксидантной системой клеток и тканей, в том числе антиоксидантными ферментами: супероксиддисмутазой, каталазой, глутатионпероксидазой, глутатион-S-трансферазой и низкомолекулярными антиоксидантными соединениями ( $\alpha$ -токоферол, восстановленный глутатион, фенольная форма коэнзима Q<sub>10</sub>,  $\beta$ -каротин, аскорбиновая кислота и др.). В оптимальных условиях соотношение этих систем жизнеобеспечения поддерживается на стационарном минимальном уровне [Грубинко и др., 2001

(Grubinko et al., 2001); Скулачев, 2009 (Skulachev, 2009); Winston, 1991; Fiho, 1996]. При воздействии негативных стресс-факторов происходит активация процессов окислительного стресса, вызывающая избыточное накопление активных форм кислорода (АФК), и снижение активности ферментных и неферментных антиоксидантов. Избыток АФК (супероксидный и гидроксильный радикалы, синглетный кислород, пероксиды и многие другие соединения) становится причиной активации ПОЛ клеточных мембран, разрушения нуклеиновых кислот, белков, повреждения ДНК, митохондрий, пероксидации липидов и инактивации структур антиокислительной защиты [Барабой и др., 1992 (Baraboy et al., 1992); Winston, 1991; Fiho, 1996].

Основные иммунокомпетентные органы, ответственные за реализацию иммунологических функций у костистых рыб – печень, почки и селезенка. Результаты анализа данных, полученных в нашем исследовании в тканях почек, печени и селезенки (рис. 2–4), отражают зависимость уровня окислительного процессов от особенностей структурно-функциональной организации указанных органов.

Печень у рыб, как и у млекопитающих, многофункциональна и принимает активное участие в процессах переваривания пищи, синтезе белков плазмы крови, поддержании гомеостатического баланса, детоксикации, аккумуляции антигенов и выведения их из организма [Микряков, 1991 (Mikryakov, 1991); Арцимович и др., 1992 (Artsimovich et al., 1992); Маянский, 1992 (Mayansky, 1992)]. При

исследовании содержания МДА в тканях печени в обеих опытных группах отмечено изменение данного показателя (рис. 2а): в группе № 2 содержание МДА было выше, а у карпов 3-ей группы ниже контроля.

Почки состоят из двух отделов: переднего (головного) и туловищного. Головная почка участвует в производстве всех типов иммунокомпетентных клеток [Микряков, 1991 (Mikryakov, 1991); Secombes et al., 1983], туловищная, входя в состав мочевыделительной системы, выполняет и иммунную функцию. В тканях почек в группе № 2 содержание МДА значительно возросло через 1 сут окончания кормления, в дальнейшем снижалось, но оставалось выше контрольных значений. В группе № 3 повышение показателя отмечалось через 3 и 7 сут наблюдения (рис. 3а).

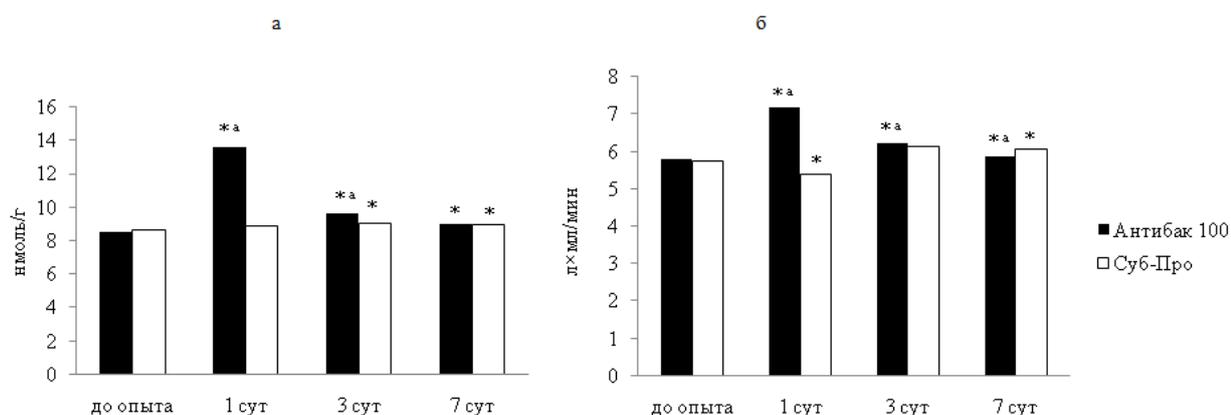


Рис. 3. Содержание МДА (а) и уровень КОС (б) в почке.

Fig. 3. The content of MDA (a) and the level of ICSO (b) in the kidney.

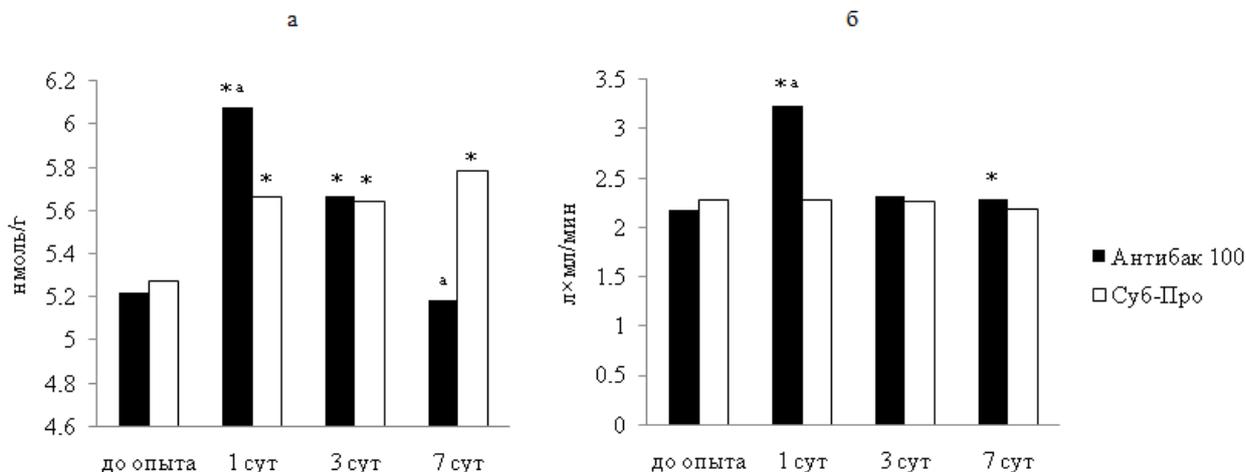


Рис. 4. Содержание МДА (а) и уровень КОС (б) в селезенке.

Fig. 4. The content of MDA (a) and the level of ICSO (b) in the spleen.

Селезёнка – основной орган эритро- и тромбопоэза [Микряков, Балабанова, 1979 (Mikryakov, Balabanova, 1979)], она также обладает фагоцитарной активностью в отношении микробов и старых клеток крови, служит “депо” эритроцитов [Fange, Nilsson, 1985]. Здесь содержание МДА у особей обеих опытных групп резко повышалось в первые сроки наблюдения, а через 7 сут эксперимента во 2-

ой группе оно было ниже, чем до опыта, а в 3-ей – вновь возросло (рис. 4а).

Во всех исследуемых органах рыб 2-й группы происходило существенное повышение показателя КОС по сравнению с контролем, тогда как в группе № 3 аналогичное изменение отмечено только в почках, а в печени и селезенке – незначительное снижение (рис. 2б–4б).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышенное содержание МДА в иммунокомпетентных тканях опытных рыб показывает, что воздействие данных препаратов приводило к усилению ПОЛ и развитию оксидативного стресса. Усиление пероксид-генерирующих процессов и дефицит антиоксидантов у рыб, получавших препараты, указывают на нарушение окислительно-восстановительного баланса в иммунокомпетентных органах. Усиление пероксид-генерирующих процессов у рыб 1 и 2-й групп сопровождалось изменением интегрального показателя антиоксидантной защиты. Отмеченный повышенный

уровень показателя КОС, особенно ощутимый через неделю от начала кормления обоими препаратами, свидетельствует о дефиците антиоксидантов в иммунокомпетентных органах.

Выявленные закономерности и фазовый характер происходящих изменений окислительно-восстановительного баланса в тканях, сопровождающийся усилением свободнорадикальных и перекисных процессов и снижением антиоксидантной защиты, являются типичными для реакции рыб на стресс и отражают развитие общего адаптационного синдрома.

Работа выполнена в рамках Государственного задания (тема № АААА-А18-118012690123-4).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреева Л.И., Кожемякин Н.А., Кишкун А.А. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. 1988. № 11. С. 41–43.
- Арцимович Н.Г., Настоящая Н.Н., Казанский Д.Б., Ломакин М.С. Печень как орган иммунобиологической системы гомеостаза // Успехи современной биологии. 1992. Т. 112, № 1. С. 88–99.
- Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука, 1992. 148 с.
- Бурлаченко И.В. Теоретические и прикладные аспекты повышения резистентности осетровых рыб в аквакультуре // Дисс... доктора биологических наук. М. 2007. 319 с.
- Бычкова Л.И., Юхименко Л.Н., Ходак А.Г., Скоробогатько О.С. Пробиотический препарат СУБ-ПРО (субалин) – альтернатива антибиотикам // Рыбоводство. 2008. № 2. С. 48–49.
- Виолин Б.В., Абрамов В.Е., Ковалев В.Ф. Химиотерапия при бактериальных и паразитарных болезнях // Ветеринария. 2001. № 1. С. 42–46.
- Гаврилин К.В. Опыт борьбы с бактериальной геморрагической септициемией (БГС) в условиях декоративной аквариумистики // Мат-лы Межд. науч.-практ. конф. молодых ученых “Проблемы аквакультуры и функционирования водных экосистем”. Киев. 2002. С. 147–149.
- Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н., Головин П.П., Евдокимова Е.Б., Юхименко Л.Н. Ихтиопатология. Под ред. Н.А. Головиной, О.Н. Бауера. М.: Мир, 2003. 448 с.: ил. (Учебники и учеб. пособия для студентов высших учебных заведений).
- Гончаров Г.Д. Лабораторная диагностика болезней рыб. М.: Колос, 1973. 119 с.
- Гончарова М.Н., Енгашев В.Г. Фармакокинетика фторхинолонов в организме рыб // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: Сб. тезисов докл. Всерос. науч.-практ. конф. М.: Россельхозакадемия, 2003. С. 33–35.
- Грищенко Л.И., Акбаев М.Ш. Болезни рыб с основами рыбоводства: Учебник. М.: КолосС, 2013. 479 с.
- Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А., Шульга Е.А. Биологическая эффективность применения пробиотика Субтилис в составе стартовых комбикормов для осетровых рыб // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2009. 11. № 1. С. 42–45.
- Грубинко В.В., Леус Ю.В., Арсан О.М. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (обзор) // Гидробиол. журн. 2001. Т. 37, № 1. С. 64–78.
- Лукьяненко В.И. Иммунология рыб: врожденный иммунитет. Москва; ВО ”Агропромиздат”, 1989. 272 с.
- Маянский Д.Н. Иммунологические свойства синусоидных клеток печени // Успехи соврем. биологии. 1992. Т. 112, Вып. 1. С. 100–114.
- Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. 153 с.

- Микряков В.Р., Балабанова Л.В. Клеточные основы иммунитета у рыб // Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979. С. 57–64.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Силкина Н.И., Лапирова Т.Б., Попов А.В., Андреева А.М., Гречанов И.Г., Лобунцов К.А. Функционирование иммунной системы рыб под воздействием биотических и абиотических факторов. ИБВВ АН СССР. Борок, 1991. Деп. в ВИНТИИ, № 809-В91. 93 с.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Попов А.В., Силкина Н.И. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука, 2001. 126 с.
- Остроумова И.Н. Биологические основы кормления рыб. СПб.: ГОНИОРХ, 2001. 372 с.
- Отраслевой стандарт. Охрана природы. Гидросфера. Вода для прудовых форелевых и карповых хозяйств. Общие требования. ОСТ 15.282–83.
- Отраслевой стандарт. Показатели качества воды прудовых хозяйств. ОСТ 15.247–81.
- Семёнов В.Л., Ярош А.М. Метод определения антиокислительной активности биологического материала // Укр. биохим. журн. 1985. Т. 57, № 3. С. 50–52.
- Скляр В.Я., Микряков В.Р., Кулаков Г.В., Кудряшова Е.Б., Вайнштейн М.Б. Перспективы применения препарата пробиотик “Субтилис®” в рыбоводстве для обработки икры, эмбрионов и личинок рыб на примере карася *Carassius carassius* и карпа *Cyprinus carpio* (отряд карпообразные Cypriniformes, семейство карповые Cyprinidae) // Вопр. рыболов. 2004. 5. № 3. С. 514–521.
- Скулачев В.П. Новые сведения о биохимическом механизме запрограммированного старения организма и антиоксидантной защите митохондрий // Биохимия. 2009. Т. 74, Вып. 12. С. 1718–1721.
- Смирнова О.В., Кузьмина Т.А. Определение бактерицидной активности сыворотки методом нефелометрии // Журн. микробиол. 1966. № 4. С. 8–11.
- Юхименко Л.Н., Гаврилин К.В., Бычкова Л.И. Химиотерапия бактериальных болезней рыб, достоинства и недостатки // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции. М.: Россельхозакадемия. 2003 г. С. 142–143.
- Anderson D.P. Fish immunology // Diseases of Fishes. Hong Kong, 1974. Vol. 4. P. 239.
- Fänge R., Nilsson S. The fish spleen: structure and function // Experimentia. 1985. Vol. 41. № 2. P. 152–158.
- Fiho W.D. Fish antioxidant defences – A comparative approach // Braz. J. Med. and Biol. Res. 1996. Vol. 29. № 12. P. 1735–1742.
- Galdeano C.M., Perdígón G. Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation // J. Appl Microbiol. 2004. Vol. 97(4). P. 673–81.
- Secombes C.J., VanGroningen J.M., Egberts E. Ontogeny of the immune system in carp (*Cyprinus carpio* L.). The appearance of antigenic determinants on lymphoid cells detected by mouse anti-carp thymocyte monoclonal antibodies // Dev. comp. immunol. 1983. Vol. 7. P. 455–464.
- Soltani M., Mikryakov V.R., Lapirova T.B., Zabolotkina E.A., Popov A.V. Assessment of some immune response variables of immunized common carp (*Cyprinus carpio*) following exposure to organophosphate, malathion // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 2003. Vol. 23(1). P. 18–24.
- Winston G.W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals // Compar. Biochem. and Physiol. 1991. Vol. 100. № 1–2. P. 173–176.

## REFERENCES

- Andreeva L.I., Kozhemyakin N.A., Kishkun A.A. 1988. Modifikaciya metodov opredeleniya perekisej lipidov v teste s tiobarbiturovoj kislotoj [Modification of methods for determining lipid peroxides in the test with thiobarbituric acid] // Laboratornoe delo. № 11. S. 41–43. [In Russian]
- Anderson D.P. 1974. Fish immunology // Diseases of Fishes. Hong Kong. B. 4. P. 239.
- Arcimovich N.G., Nastoyashchaya N.N., Kazanskij D.B., Lomakin M.S. 1992. Pechen' kak organ immunobiologicheskoy sistemy gomeostaza [Liver as an organ of the immunobiological system of homeostasis] // Uspekhi sovremennoj biologii. T. 112, № 1. S. 88–99. [In Russian]
- Baraboj V.A., Brekhman I.I., Golotin V.G., Kudryashov Yu.B. 1992. Perekisnoe okislenie i stress [Peroxidation and stress]. SPb.: Nauka. 148 s. [In Russian]
- Burlachenko I.V. 2007. Teoreticheskie i prikladnye aspekty povysheniya rezistentnosti osetrovyyh ryb v akvakul'ture [Theoretical and applied aspects of increasing the resistance of sturgeon in aquaculture] // Diss... doktora biologicheskikh nauk. M. 319 s. [In Russian]
- Bychkova L.I., Yuhimenko L.N., Hodak A.G., Skorobogat'ko O.S. 2008. Probioticheskiy preparat SUB-PRO (subalin) – al'ternativa antibiotikam [Probiotic drug SUB-PRO (subalin) - an alternative to antibiotics] // Rybovodstvo. № 2. S. 48–49. [In Russian]
- Fänge R., Nilsson S. 1985. The fish spleen: structure and function // Experimentia. Vol. 41, № 2. P. 152–158.
- Fiho W.D. 1996. Fish antioxidant defences – A comparative approach // Braz. J. Med. and Biol. Res. Vol. 29, № 12. P. 1735–1742.
- Gavrilin K.V. 2002. Opyt bor'by s bakterial'noj gemorragicheskoy septicemiej (BGS) v usloviyah dekorativnoj akvariumistiki [Experience in the fight against bacterial hemorrhagic septicemia (BGS) in the conditions of decorative aquarism] // Mat-ly Mezhd. nauch.-prakt. konf. molodyh uchenykh “Problemy akvakul'tury i funkcionirovaniya vodnyh ekosistem”. Kiev. S. 147–149. [In Russian]

- Galdeano C.M., Perdígón G. 2004. Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation // *J. Appl Microbiol.* Vol. 97(4). P. 673–81.
- Golovina N.A., Strelkov Yu.A., Voronin V.N., Golovin P.P., Evdokimova E.B., Yuhimenko L.N. 2003. Ihtopatologiya [Ichthyopathology]. Pod red. N.A. Golovinoj, O.N. Bauera. M.: Mir. 448 s.: il. (Uchebniki i ucheb. posobiya dlya studentov vysshih uchebnyh zavedenij). [In Russian]
- Goncharov G.D. 1973. Laboratornaya diagnostika boleznej ryb [Laboratory diagnosis of fish diseases]. M.: Kolos, 119 c. [In Russian]
- Goncharova M.N., Engashev V.G. 2003. Farmakokinetika fluorhinolonov v organizme ryb [Pharmacokinetics of fluoroquinolones in the body of fish] // *Problemy patologii, immunologii i ohrany zdorov'ya ryb i drugih gidrobiontov: Sb. tezisev dokl. Vseros. nauch.-prakt. konf. M.: Rossel'hozakademiya.* S. 33–35. [In Russian]
- Grishchenko L.I., Akbaev M.Sh. 2013. Bolezni ryb s osnovami rybovodstva: Uchebnik [Diseases of fish with the basics of fish farming: Tutorial]. M.: KolosS. 479 s. [In Russian]
- Grozesku Yu.N., Bahareva A.A., Shul'ga E.A. 2009. Biologicheskaya effektivnost' primeneniya probiotika *Subtilis* v sostave startovyh kombinormov dlya osetrovyyh ryb [Biological efficacy of probiotic *Subtilis* in the composition of starter feed for sturgeon] // *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN.* 11. № 1. S. 42–45. [In Russian]
- Grubinko V.V., Leus Yu.V., Arsan O.M. 2001. Perekisnoe okislenie lipidov i antioksidantnaya zashchita u ryb (obzor) [Lipid peroxidation and antioxidant protection in fish (review)] // *Gidrobiol. zhurn.* T. 37, № 1. S. 64–78. [In Russian]
- Luk'yanenko V.I. 1989. Immunobiologiya ryb: vrozhdennyj immunitet [Fish immunobiology: innate immunity]. Moskva; VO "Agropromizdat". 272 s. [In Russian]
- Mayanskij D.N. 1992. Immunologicheskie svoystva sinusoidnyh kletok pecheni [Immunological properties of sinusoidal cells of the liver] // *Uspekhi sovrem. biologii.* T. 112, Vyp. 1. S. 100–114. [In Russian]
- Mikryakov V.R. Zakonomernosti formirovaniya priobretennogo immuniteta u ryb [Patterns of formation of acquired immunity in fish]. Rybinsk: IBVV RAN, 1991. 153 s. [In Russian]
- Mikryakov V.R., Balabanova L.V. 1979. Kletochnye osnovy immuniteta u ryb [Cellular basis of immunity in fish] // *Fiziologiya i parazitologiya presnovodnyh zhivotnyh.* L.: Nauka. S. 57–64. [In Russian]
- Mikryakov V.R., Balabanova L.V., Silkina N.I., Lapirova T.B., Popov A.V., Andreeva A.M., Grechanov I.G., Lobuncov K.A. 1991. Funkcionirovanie immunoj sistemy ryb pod vozdejstviem bioticheskikh i abioticheskikh faktorov [The functioning of the immune system of fish under the influence of biotic and abiotic factors]. IBVV AN SSSR. Borok. Dep. v VINITI, № 809-V91. 93 s. [In Russian]
- Mikryakov V.R., Balabanova L.V., Zobotkina E.A., Lapirova T.B., Popov A.V., Silkina N.I. 2001. Reakciya immunoj sistemy ryb na zagryaznenie vody toksikantami i zakislenie sredy [The reaction of the immune system of fish to water pollution with toxicants and acidification of the environment]. M.: Nauka. 126 s. [In Russian]
- Ostromova I.N. 2001. Biologicheskie osnovy kormleniya ryb [Biological basis of feeding fish]. SPb.: GONIORH. 372 s. [In Russian]
- Otraslevoj standart. Ohrana prirody. Gidrosfera. Voda dlya prudovyh forelevykh i karpovyh hozyajstv. Obshchie trebovaniya [Industry standard. Protection of Nature. Hydrosphere. Water for pond trout and carp farms. General requirements]. OST 15.282–83.
- Otraslevoj standart. Pokazateli kachestva vody prudovyh hozyajstv [Industry standard. Water quality indicators of pond farms]. OST 15.247–81.
- Secombes C.J., VanGroningen J.M., Egberts E. 1983. Ontogeny of the immune system in carp (*Cyprinus carpio* L.). The appearance of antigenic determinants on lymphoid cells detected by mouse anti-carp thymocyte monoclonal antibodies // *Dev. comp. immunol.* Vol. 7. P. 455–464.
- Semyonov V.L., Yarosh A.M. 1985. Metod opredeleniya antiokislitel'noj aktivnosti biologicheskogo materiala [Method for the determination of antioxidant activity of biological material] // *Ukr. biohim. zhurn.* T. 57, № 3. C. 50–52. [In Russian]
- Sklyarov V.Ya., Mikryakov V.R., Kulakov G.V., Kudryashova E.B., Vajnshtejn M.B. 2004. Perspektivy primeneniya preparata probiotik "Subtilis®" v rybovodstve dlya obrabotki ikry, embrionov i lichinok ryb na primere karasya *Carassius carassius* i karpa *Cyprinus carpio* (otryad karpooobraznye Cypriniformes, semejstvo karpovye Cyprinidae) [Prospects for the use of the probiotic drug "Subtilis®" in fish farming for the treatment of caviar, embryos and larvae of fish on the example of the crucian *Carassius carassius* and carp *Cyprinus carpio* (carps Cypriniformes, carps Cyprinidae)] // *Vopr. rybolov.* 5. № 3. S. 514–521. [In Russian]
- Skulachev V.P. 2009. Novye svedeniya o biohimicheskom mekhanizme zaprogramirovannogo stareniya organizma i antioksidantnoj zashchite mitohondrij [New information about the biochemical mechanism of programmed aging of the body and antioxidant protection of mitochondria] // *Biohimiya.* T. 74, Vyp. 12. S. 1718–1721. [In Russian]
- Smirnova O.V., Kuz'mina T.A. 1966. Opredelenie baktericidnoj aktivnosti syvorotki metodom nefelometrii [Determination of serum bactericidal activity by nephelometry method] // *Zhurn. mikrobiol.* № 4. S. 8–11. [In Russian]
- Soltani M., Mikryakov V.R., Lapirova T.B., Zobotkina E.A., Popov A.V. 2003. Assessment of some immune response variables of immunized common carp (*Cyprinus carpio*) following exposure to organophosphate, malathion // *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* Vol. 23(1). P. 18–24.
- Violin B.V., Abramov V.E., Kovalev V.F. 2001. Himioterapiya pri bakterial'nyh i parazitarnykh boleznyah [Chemotherapy for bacterial and parasitic diseases] // *Veterinariya.* № 1. S. 42–46. [In Russian]

- Winston G.W. 1991. Oxidants and antioxidants in aquatic animals // *Compar. Biochem. and Physiol.* Vol. 100, № 1–2. P. 173–176.
- Yuhimenko L.N., Gavrilin K.V., Bychkova L.I. 2003. Himioterapiya bakterial'nyh boleznej ryb, dostoinstva i nedostatki [Chemotherapy of bacterial fish diseases, advantages and disadvantages] // *Problemy patologii, immunologii i ohrany zdorov'ya ryb i drugih gidrobiontov* // Tezisy dokladov Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii. M.: Rossel'hozakademiya. S. 142–143. [In Russian]

## **EFFECT OF ANTIBACTERIAL AND PROBIOTIC PREPARATIONS ON SPECIFIC AND NON-SPECIFIC IMMUNITY AND OXIDATIVE PROCESSES IN THE ORGANISM OF FISH**

**T. A. Suvorova, N. I. Silkina**

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences  
152742 Borok, Russia, e-mail: tanya@ibiw.yaroslavl.ru*

A comparative study of the effect of antibacterial and probiotic preparations on the antibody formation, the level of bacteriostatic activity of blood serum, the intensity of lipid peroxidation and the general antioxidant activity of the tissues of the immunocompetent organs of carps *Cyprinus carpio* L was conducted. The use of drugs increased peroxide-generating processes and the change in the integral index of antioxidant protection. The dependence of the processes occurring on the type of the drug and the features of the structural and functional organization of the organs was revealed.

*Keywords:* fish, immunity, lipid peroxidation, total antioxidant activity, Antibac 100, SUB-PRO