

УДК: 574. 632+ 612

**Механизмы экологичного восстановления иммунной защиты
Oreochromis niloticus прополисом с сенсibilизаторами на фоне развития
кандидамикозов**

Снегирев Д.В., Маннапова Р.Т., Маннапов А.Г.

РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева

Аннотация

*В последнее десятилетие, при аквариумном содержании, выделяются от рыб патогенные виды *Candida albicans*, вызывающие до 95–100% летальности. В настоящей работе изложены механизмы естественной иммунной защиты *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов пищеварительной трубки под влиянием экологичного биологически активного продукта пчеловодства (БАПП) – прополиса в комплексе с сенсibilизаторами.*

Установлено, что применение прополиса (3 группа), прополиса в комплексе с метиленовым голубым (4 группа), профлавин ацетатом (5 группа), фталоцианином цинка (6 группа) способствовали повышению лизоцимной активности сыворотки крови, по сравнению с данными рыб 2 группы (больные, не леченные) максимально в 14,3; 19,13; 5,69 и 5,43 раза, бактерицидной активности сыворотки крови – в 4,1; 4,78; 2,27 и 2,25 раза. Это свидетельствуют о высокой эффективности, экологичности применения для профилактики и терапии развившихся кандидамикозов прополиса в комплексе с метиленовым голубым.

Ключевые слова: КАНДИДАМИКОЗЫ, ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЙ ТРАКТ, *CANDIDA ALBICANS*, *OREOCHROMIS NILOTICUS*, ПРОПОЛИС, ЛИЗОЦИМНАЯ И БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ

Введение

Кандидамикозы сельскохозяйственных животных и птиц известны давно, однако их распространение в последние годы, ввиду слабой изученности многих аспектов данного вопроса имеет тенденцию к активному повышению [1-2]. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* распространены повсеместно, они содержатся в различных объектах внешней среды, в том числе в воде, почве, в организме животных и человека. До настоящего времени в основном выделялись сапрофитные формы кандид. Сегодня дрожжеподобные грибы рода *Candida* насчитывают до 90 видов. В ветеринарной микологии имеют значение в основном *C. albicans* и реже: *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. krusei*, *C. Parakrusei*, *C. guilliermondii* [3-5]. В наших исследованиях у *Oreochromis niloticus* во всех случаях были выделены только *Candida albicans* (при этом грибы *Candida* выделяли для идентификации на агаре Сабуро с хлорамфениколом 2 фирмы «BIOMERIEUX»). Первичную идентификацию *Candida albicans* проводили масс спектрометрическим методом на MALDI Biotyper в ФГОУ НМИЦ гематологии Минздрава России. Для дифференциации *C. albicans* использовали системы API-System S.A. (Франция). В последнее десятилетие кандиды стали все чаще приобретать факторы патогенности, в том числе образование биопленок, вызывающие изменения в организме животных, птиц и рыб, не совместимые с жизнью, что значительно затрудняет работу с кандидамикозами. Работы по кандидамикозам рыб являются единичными и в основном посвящены вопросам терапии и профилактики, кормления и содержания [4-5]. Неизученными остаются вопросы влияния кандидамикозов пищеварительного тракта рыб, разводимых в условиях аквариума, на механизмы их естественной иммунной защиты, которые служат индикатором устойчивости организма [6-9]. Актуальность этого вопроса усиливается в связи с повышением роли аквакультуры в решении продовольственной программы населения мира [10-12]. В этой связи необходима своевременная диагностика заболевания кандидамикозом, знание биологических особенностей патогенных видов *C. albicans*, разработка эффективных профилактических и лечебных мероприятий [2].

Целью настоящего исследования явилось: изучить состояние естественных иммунных механизмов при развитии КПТ *Oreochromis niloticus* и на фоне применения прополиса с сенсibilизаторами.

Объекты и методы

Исследования по изучению влияния прополиса с сенсibilизаторами: метиленовым голубым, профлавин ацетатом и фталоцианином цинка на показатели естественной резистентности *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, проводили на рыбах 8-месячного возраста, в количестве 100 голов, в условиях аквариумов (кафедр аквакультуры и пчеловодства, микробиологии и иммунологии) РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Рыбы 1 группы были контрольные – здоровые, 2–6 групп, естественно зараженные *Candida albicans*. Рыбы, по группам содержались в аквариумах, объемом по 100 литров, по 16–17 голов. Условия содержания и кормления были одинаковыми, согласно установленных правил и требований. С *O. niloticus* 1 и 2 групп дополнительные манипуляции не проводились. В аквариумную воду с *O. niloticus* 3 группы вносили экстракт прополиса (на 70° этиловом спирте) в дозе 0,25 мл/л, 4 группы – экстракт прополиса в той же дозе в комплексе с сенсibilизатором метиленовым голубым из расчета 1 мг/л, 5 группы – экстракт прополиса в комплексе с профлавин ацетатом в дозе 1,0 мг/л, 6 группы – экстракт прополиса в комплексе с фталоцианином цинка в дозе 1,0 мг/л. БАСК определяли согласно методических указаний по определению естественной резистентности и оценке иммунного статуса рыб (утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода РФ от 25.11.1999 г., № 13- 4- 2/ 1795) на ФЭКН, с тест культурой *A. hydrophila*, по изменению оптической плотности. ЛАСК – выявляли также фотоэлектроколориметрическим методом с тест культурой *Micrococcus lisodecticus*. Забор крови для получения сыворотки проводили шприцем из кровеносных сосудов хвостового стебля до начала опытов (фон), затем на 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опытов.

Статистический анализ количественных данных проводили с использованием программ *Statistica 6.1* и приложения *Excel* из пакета *MS Office 2007*.

Результаты исследований

Результаты исследования динамики изменения лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК) *Oreochromis niloticus* на фоне развития кандидамикозов представлены в таблице. Лизоцим – фермент с мурамидазной активностью. Содержится в слизи, сыворотке крови и фагоцитах рыб. Лизоцим рыб имеет такую же молекулярную массу, как и лизоцим животных, но отличается от них по составу аминокислот. Он разный у разных ви-

дов рыб и отличается часто внутри каждого вида. Выраженную активность проявляет против Gr+ микробов [7-9].

Активность лизоцима сыворотки крови рыб 2–6 групп, на фоне развития кандидамикозов, была к началу опытов снижена в 1,26–1,49 раза. Показатель лизоцимной активности рыб 1 контрольной группы в процессе опыта повышался, в сравнении с фоновым значением, в возрастном аспекте, на 7, 14, 21 и 30 сут. – в 1,57; 2,48; 4,04 и 3,28 раза. ЛАСК *O.niloticus* 2 группы, напротив, в период опыта имела тенденцию к активному снижению и уступала показателям рыб 1 контрольной группы, на эти сроки исследований, в 2,63; 5,17; 11,3 и 10,4 раза. Внесение в аквариумную воду *O.niloticus* экстракта прополиса способствовало значительной активизации в сыворотке крови рыб лизоцимной активности. Показатели рыб 3 группы превысили не только их значения у рыб 2 группы, но даже и 1 контрольной. На 7, 14, 21 и 30 сут. исследований от начала опытов лизоцимная активность сыворотки крови рыб 3 группы была выше данных по 1 и 2 группам, в 1,11 и 2,93; в 1,15 и 5,94; в 1,04 и 1,17 и в 1,37 и 14,3 раза, что объясняется определенным антимикотическим и выраженным иммуностимулирующим действием прополиса, связанным с его химическим составом и удачным сочетанием химических компонентов его с ферментами мандибулярных желез пчел в процессе образования специальными пчелами активной прополисной биомассы [2].

Более высокого уровня ЛАСК достигла у рыб на фоне внесения в аквариумную воду прополиса в комплексе с метиленовым голубым – 4 группа. Здесь показатель ЛАСК *O.niloticus* превысила данные рыб по 2 группе, на эти сроки опыта, в 4,41; 8,0; 8,8; 13,0 и 19,1 раза. Самое высокое значение ЛАСК рыб 4 группы объясняется хорошим антимикотическим действием метиленового голубого на фоне выраженного иммуностимулирующего действия на организм *O.niloticus* прополиса и снятием, хотя и незначительного, но токсического действия метиленового голубого на организм рыб (табл. 1).

Применение сенсibilизаторов профлавинов ацетата и фталоцианина цинка также способствовали определенному повышению ЛАСК *O. niloticus* 5 и 6 групп. Однако выраженность данного процесса в этих группах была значительно слабее, по сравнению с активностью лизоцима в сыворотке крови рыб 3 и 4 групп, что обуславливается с сохранением токсичности этих сенсibilизаторов даже после применения прополиса. При этом показатели ЛАСК *O. niloticus* 5 и 6 групп, во все сроки опытов, были выше их значений у

рыб 2 группы: на 7 сут.- в 1,58 и 1,65; на 14 сут.- в 2,66 и 2,43; на 21 сут.- в 4,19 и 4,46 раза; на 30 сут.- в 5,69 и 5,43 раза.

Таблица 1. Динамика лизоцимной активности сыворотки крови *Oreochromis niloticus* (%)

Группы	Стат. показатель	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	1,46	2,29	3,62	5,90	4,80
	±m	0,08	0,08	0,17	0,30	0,34
	Cv, %	11,94	7,61	10,25	11,24	15,59
	P		***	***	***	***
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	1,12	0,87	0,70	0,52	0,46
	±m	0,03	0,04	0,03	0,03	0,04
	Cv, %	6,68	10,02	9,04	13,51	17,39
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> + прополис 0,5 мл/л (3)	М	1,04	2,55	4,16	6,13	6,58
	±m	0,05	0,18	0,09	0,21	0,18
	Cv, %	9,81	15,49	4,95	7,57	6,18
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> + метиленовый голубой 1,0 мг/л + прополис 0,5 мл/л (4)	М	0,98	3,84	5,60	6,76	8,80
	±m	0,03	0,24	0,22	0,33	0,52
	Cv, %	7,64	13,84	8,75	10,97	13,25
	P	*	***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> + профлавин ацетат 1,0 мг/л + прополис 0,5 мл/л (5)	М	1,16	1,38	1,86	2,18	2,62
	±m	0,05	0,06	0,02	0,05	0,05
	Cv, %	8,79	9,61	2,63	5,35	4,45
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> + фталоцианин цинка 1,0 мг/л + прополис 0,5 мл/л (6)	М	1,09	1,44	1,70	2,32	2,50
	±m	0,03	0,07	0,06	0,05	0,10
	Cv, %	6,09	10,39	8,32	5,03	9,12
	P		***	***	***	***

Примечание: * P ≥ 0,95; ** P ≥ 0,99; *** P ≥ 0,999 - по сравнению с 2-й группой.

Изменение динамики бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК), на фоне развития кандидамикозов и разных методах терапии с прополисом и сенсibilизаторами, у *O. niloticus* представлено на рис. 1.

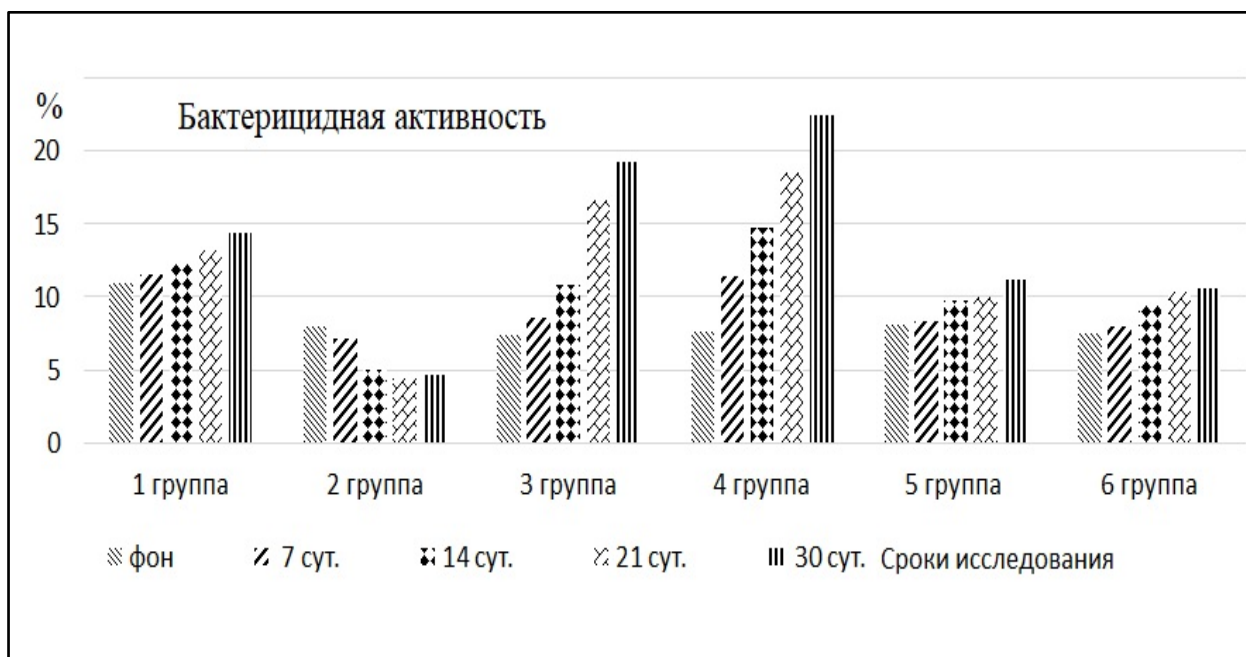


Рис. 1. Динамика бактерицидной активности сыворотки крови *Oreochromis niloticus* (%)

БАСК рыб 1 контрольной группы в процессе опытов не имела высоких показателей. Она изменялась в сторону увеличения в возрастном аспекте, но к 30 сут. от начала опытов увеличилась лишь в 1,3 раза от фонового значения.

Фоновый показатель БАСК рыб *O. niloticus* 2–6 групп, на фоне активизации в организме *Candida albicans*, был ниже его значения у рыб 1 контрольной группы, в 1,36–1,48 раза. Показатель БАСК рыб 2 группы, не подвергнутых лечебно-профилактическим манипуляциям, в процессе опытов продолжал снижаться и уступал показателям рыб 1 группы на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 1,61; 2,48; 3,0 и 3,06 раза.

Внесение в аквариумную воду *O. niloticus* 3 группы экстракта прополиса способствовало резкому повышению БАСК рыб. Данный показатель у рыб увеличился, в этой группе, по сравнению с их значением по 2 группе, на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 1,19; 2,16; 3,79 и 4,1 раза. При этом на 21 и 30 сут. опыта БАСК рыб 3 группы была выше контрольных цифр, в 1,26–1,34 раза. Максимального уровня БАСК *O. niloticus* достигла у рыб 4 группы, на фоне комплексного применения прополиса с метиленовым голубым. Здесь на 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опытов, описываемый показатель превысил данные по 2 группе, в 1,58; 2,96; 4,23 и 4,78 раза и даже был выше контрольных цифр рыб 1 группы, на 14, 21 и 30 сут. опыта, в 1,19; 1,4 и 1,56 раза. Внесение в состав аквариумной воды, в которой содержали *O. niloticus*, профлавина ацетата и фталоцианина цинка также способствовали

некоторому повышению БАСК рыб. Однако этот процесс в 5 и 6 группах имел более низкую степень проявления и выраженности, по сравнению с данными по 3 и особенно 4 группам. На 7,14, 21 и 30 сут. опыта уровень БАСК *O. niloticus* 5 и 6 групп превысил показатели рыб 2 группы в 1,15 и 1,11; в 1,96 и 1,9; в 2,27 и 2,36; в 2,38 и 2,25 раза.

Заключение

В связи с появлением патогенных форм *Candida albicans*, при разведении в условиях аквариумного содержания *Oreochromis niloticus*, стали нередко регистрироваться кандидамикозы пищеварительного тракта, которые наносят существенный экономический ущерб. Летальность может достигать до 95–100% поголовья рыб за короткое время. Для обеспечения населения экологичной продукцией необходим поиск не только эффективных антимикотических препаратов, которые попадают с рыбой в пищу человеку и наносят вред здоровью. Необходимы средства и меры профилактики КПТ, которые не имеют химическую природу, не наносят вред иммунному статусу рыб, обладают антимикотическим, иммуностимулирующим действием на самих *O. niloticus*, абсолютно экологичны, совершенно безвредны для людей. К таким препаратам относится БАПП – прополис. Применение прополиса в комплексе с метиленовым голубым способствовало полному снятию его незначительного токсического эффекта (в сравнении с токсичностью других сенсibilизаторов) на фоне развития КПТ у *O. niloticus*; значительной активизации в организме рыб факторов естественной иммунной защиты. Применение прополиса (3 группа), прополиса в комплексе с метиленовым голубым (4 группа), профлавин ацетатом (5 группа), фталоцианином цинка (6 группа) способствовали повышению лизоцимной активности сыворотки крови, по сравнению с данными рыб 2 группы (больные, не леченные), по 3,4,5 и 6 группам максимально в 14,3; 19,13; 5,69 и 5,43 раза, бактерицидной активности сыворотки крови – в 4,1; 4,78; 2,27 и 2,25 раза. Это подтверждает высокую эффективность, экологичность применения прополиса в комплексе с метиленовым голубым для профилактики и терапии развившихся кандидамикозов при аквариумном разведении *O. niloticus*.

Список использованных источников:

1. Ожередова Н.А. Распространение, особенности клинического проявления и диагностика кандидамикозов рыб в Ставропольском крае // Вестник Ставропольского государственного университета. - № 42. - 2005. - С.60-65.
2. Шайхулов Р.Р., Маннапова Р.Т. Кандидамикозы пищеварительного тракта гусей // Ветеринария. - 2023. - № 3. - С. 26-30.
3. Маннапова Р.Т., Шайхулов Р.Р., Маннапов А.Г., Лисейцев А.В. Восстановление баланса *Candida albicans* и продуктивности гусей при развитии кандидамикозов пищеварительного тракта // Журнал «Главный зоотехник». - 2021, № 10. - С. 10-21.
4. Ожередова Н.А. Основные особенности диагностики кандидамикоза у прудовых рыб на Ставрополье // Вестник АПК Ставрополья. - 2011. - № 32 (2). - С. 19-21.
5. Ожередова Н.А., Кононов А.Н., Заерко В.И., Светлакова Е.В., Михайленко В.В. Наиболее распространенные условно- патогенные и патогенные виды кандид и их влияние на живой организм // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 2.
6. Габолаева А.Р. Влияние биологически активных веществ на естественную резистентность рыб // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. Материалы международной научно – практической конференции, 16–17 марта 2022 г.- Том - Выпуск XVIII. Йошкар-Ола. - 2022. - С. 481–494.
7. Завьялова З.А., Дрошиев А.Е, Бузина К.Ю. Эпизоотическая ситуация по болезням рыб; методы исследования, тенденции, перспективы// Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. - 2018. - № 1 (25). - С. 136-142.
8. Карпенко Л.Ю., Бахта А.А., Иванова К.П., Полистовская П.А., Печёнкина А.А., Галецкий В.Б., Рудяк В.П. Анализ показателей лизоцимной активности сыворотки крови радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) при применении препарата «Smartbiotic». *Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии*. 2021;(4):140-142. - DOI: <https://doi.org/10.52419/issn2072-6023.2021.4.140>
9. Киташова А.А. Реакции врожденного и приобретенного иммунитета у рыб в естественных и экспериментальных условиях: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.10, 14.00.36: Москва. - 2002 - 186 с. РГБ ОД, 61:02-3/1125–2
10. Александрова У.С., Ковалева А.В., Матишов К.Д. // Выращивание нетрадиционных объектов аквакультуры в условиях установок с замкнутым водоиспользованием. Наука Юга России. - 2018. - № 14 (4). - С. 74–81.
11. Борисова М.Н., Яковлев С.С. Ветеринарная защита рыбоводческих хозяйств // Ветеринария. - 2004. - № 4. - С. 3-6.
12. Богерук А.К. Аквакультура России: история и современность // Рыбное хозяйство. - 2006. - № 2. - С. 4–42.

Снегирев Д.В., Маннапова Р.Т., Маннапов А.Г. Механизмы экологического восстановления иммунной защиты *Oreochromis niloticus* прополисом с сенсibilизаторами на фоне развития кандидамикозов

.....
**Электронный научно-производственный журнал
«АгроЭкоИнфо»**
=====

Цитирование:

Снегирев Д.В., Маннапова Р.Т., Маннапов А.Г. Механизмы экологического восстановления иммунной защиты *Oreochromis niloticus* прополисом с сенсibilизаторами на фоне развития кандидамикозов [Электрон. ресурс] // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2023. – № 4. – Режим доступа: http://agroecoinfo.ru/STATYI/2023/4/st_420.pdf. DOI: <https://doi.org/10.51419/202134420>.