

УДК 619:616.995.122.21:636.22/.28

М. В. ЯКУБОВСКИЙ, Н. Ю. ЩУРОВА

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ПРИ ФАСЦИОЛЕЗЕ (*FASCIOLOSIS*) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелеского

(Поступила в редакцию 10.11.2006)

В Беларуси в последние годы наблюдается достаточно высокий уровень заражения крупного рогатого скота фасциолами (*Fasciola hepatica*) – в ряде районов республики от 10 до 50% и более. По нашим исследованиям, проведенным в ряде хозяйств, экстенсивность этой инвазии превысила 70% [1]. В среднем по республике уровень инвазированности фасциолами крупного рогатого скота составляет 18,27%, в том числе коров – 47,78%, телок – 13,97% [1–3].

Такое состояние, во-первых, обусловлено наличием многочисленных низменностей, используемых для пастбы скота, отсутствием системы смены пастбищ. Во-вторых, в большинстве хозяйств не всегда выдерживают оптимальные сроки дегельминтизации животных или используют антгельминтики с низким терапевтическим эффектом [2, 3], поэтому в последние годы особое значение приобретают высокоэффективные противопаразитарные средства: фазинекс, рафоксанид, клозантел, нитроксинил, албендазол, оксиклозанид, триклабендазол [3]. Однако при их применении отмечаются следующие недостатки: угнетение иммунитета и обменных процессов организма животных; наличие остаточных количеств этих препаратов в животноводческой продукции; появление резистентности у паразитов к препаратам при их длительном применении.

В литературе имеются многочисленные сообщения о том, что антигельминтные препараты, даже в терапевтических дозах, оказывают иммуносупрессивное действие на организм животных [4–6].

Проводимые в последние годы исследования по фасциозу направлены в основном на изучение патогенеза и иммунитета при этом трематодозе, разработку новых эффективных (в том числе комплексных) препаратов и внедрение их в ветеринарную практику [6–8].

В связи с вышеизложенным нами сконструирован новый отечественный комплексный препарат – тетрагельминтоцид (*Tetrahelmintacid*), сочетающий в себе свойства антгельминтика, гепатопротектора и иммуностимулятора, который при этом прост в применении и экономически приемлем.

Цель настоящих исследований – изучить и сравнить влияние тетрагельминтоцида и некоторых химиотерапевтических препаратов на уровень иммунитета крупного рогатого скота при спонтанном заражении фасциолами.

**Объекты и методы исследований.** Исследования проводили с ноября 2005 г. по апрель 2006 г. в СФ «Пуховичский» Пуховичского района Минской области. Для этого отобрали 50 животных в возрасте от 3 до 5 лет, из которых сформировали три опытные и две контрольные группы по 10 гол. в каждой: в I контрольную группу вошли клинически здоровые интактные коровы; во II контрольную и 3 опытные группы вошли животные, инвазированные фасциолами; животным III группы (опытной) применили тетрагельминтоцид однократно в дозе 50 мг/кг массы тела; животным IV группы (опытной) были дегельминтированы клозантимом (АДВ клозантел) в дозе 2,5 мг на 1 кг массы по АДВ (что соответствует 1 мл препарата на 20 кг массы) однократно; животным V группы (опытной) вводили внутримышечно иммуностимулятор тималин в дозе 2 мг/кг массы тела в течение 3 сут.

Кровь для исследования брали из яремной вены у каждого животного всех групп до введения препаратов и на 3, 7, 14, 30, 60-й дни исследования.

Для оценки иммунологического статуса крупного рогатого скота, инвазированного и свободного от фасциол, определяли в крови абсолютное число лейкоцитов и эритроцитов, уровень гемоглобина (г/л) по общепринятым методикам. Лейкоцитарную формулу выводили путем подсчета 200 клеток в мазках крови, окрашенных по Романовскому–Гимза, согласно рекомендациям А. А. Кудрявцева, Л. А. Кудрявцевой [9].

Определение *T*- и *B*-лимфоцитов проводили по методике Д. К. Новикова, В. И. Новиковой [10], фагоцитарную активность нейтрофилов определяли согласно Методическим указаниям по определению естественной резистентности и путях ее повышения у молодняка сельскохозяйственных животных [11], активность лизоцима в сыворотке крови – по В. Г. Дорофейчук [10], количество циркулирующих иммунных комплексов – по методу Ю. А. Гриневич, И. И. Алферова [12], общий белок и белковые фракции – с помощью электрофоретической системы SEBIA, количество отдельных иммуноглобулинов – по G. **Manchini et al.** [10].

Из биохимических показателей исследовали активность аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы на биохимическом анализаторе «CORMAY LUMEN».

Иммунологические, гематологические, биохимические и копроовоскопические исследования проводили в отделе паразитологии Института экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского и в центральной научно-исследовательской лаборатории Витебской государственной академии ветеринарной медицины.

Исследования проводили в соответствии с Государственной программой развития производства ветеринарных препаратов и инструментов, используемых в ветеринарии, на 2005–2008 годы, утвержденной Постановлением Совета Министров Республики Беларусь 30.02.2005 г., которая предусматривает в первую очередь производство отечественных ветеринарных препаратов.

**Результаты и их обсуждение.** Исследование морфологического состава крови имеет большое диагностическое значение, поскольку эти показатели выполняют множество функций [13].

В крови у здоровых коров количество эритроцитов колебалось от  $5,26 \cdot 10^{12}/л$  до  $7,05 \cdot 10^{12}/л$ , тогда как у больных фасциолезом она составляла  $(4,39–5,22) \cdot 10^{12}/л$ . После дегельминтизации тетрагельминтоцидом достоверное увеличение уровня эритроцитов на 25,43% ( $P < 0,05$ ) отмечалось уже на 7-й день исследования по сравнению с животными II группы. В это же время происходило увеличение уровня эритроцитов в V группе, обработанной тималином, – на 29,08% ( $P < 0,01$ ). После дегельминтизации клозантимом достоверное увеличение уровня эритроцитов наблюдалось лишь на 30-й день исследования.

Исследование влияния тетрагельминтоцида, клозантима и тималина на содержание лейкоцитов в крови показало, что дегельминтизация тетрагельминтоцидом и клозантимом вызывала снижение уровня лейкоцитов на 45,09 и 36,35% ( $P < 0,001$ ) на 7-й день исследования по сравнению с животными II группы. К 30–60-му дню после дегельминтизации уровень лейкоцитов в крови животных III и IV групп незначительно колебался по сравнению с предыдущим сроком исследований и составлял  $5,87 \cdot 10^{12}/л$  и  $5,02 \cdot 10^{12}/л$  соответственно. У инвазированных животных контрольной группы данный показатель в среднем составил  $8,80 \cdot 10^{12}/л$  ( $P < 0,001$ ).

У инвазированных фасциолами животных, обработанных тималином, количество лейкоцитов в крови увеличилось от  $7,15 \cdot 10^9/л$  в начале опыта до  $11,63 \cdot 10^9/л$  на 7-й день исследования ( $P < 0,001$ ). Высокое содержание лейкоцитов в крови связано с тем, что тималин стимулирует образование лейкоцитов, а именно пролиферацию лимфоцитов.

Гемоглобин входит в состав буферной системы крови и играет важную роль в окислительно-восстановительных процессах организма [13].

В начале исследований было установлено, что количество гемоглобина в крови зараженных фасциолами животных было ниже, чем у животных I группы. Введение тетрагельминтоцида и тималина способствовало увеличению уровня гемоглобина на 19,32% ( $P < 0,01$ ) и 15,64% ( $P < 0,05$ ) на 7-й день исследования по сравнению с инвазированными животными контрольной группы. К 30–60-му дню опыта уровень гемоглобина в крови животных III и V групп приблизился к показателям животных I группы.

Ведущая роль в обеспечении иммунной реактивности организма принадлежит лимфоцитам. Их популяция гетерогенна по своему составу и представлена многочисленными субпопуляциями, основными из которых являются *T*-клетки (тимусзависимые лимфоциты) и *B*-клетки (лимфоциты, зависимые от костного мозга) [13].

Уровень *T*- и *B*-лимфоцитов до начала опыта был одинаково низким во всех опытных группах по сравнению с незараженными животными. Введение тетрагельминтоцида способствовало увеличению как количества *T*-лимфоцитов, так и *B*-лимфоцитов на 33,83% ( $P < 0,01$ ) и на 15,38% на 7-й день исследования по сравнению с животными II группы. К 60-му дню исследования количество *T*- и *B*-лимфоцитов в крови животных III опытной группы приблизилось к показателям животных I группы.

Увеличение количества *T*- и *B*-лимфоцитов после введения тималина более значительное, чем при использовании тетрагельминтоцида, что свидетельствует о высокой иммуностимулирующей способности данного препарата. Так, к 14-му дню после введения уровень *T*- и *B*-лимфоцитов был в 2,5 раза выше ( $P < 0,001$ ), чем у инвазированных фасциолами животных, которым препарат не применяли (II группа).

После дегельминтизации животных клозантимо содержание *T*- и *B*-лимфоцитов достоверно не изменилось и было ниже, чем у животных I группы, на 52,73 и 38,72% на 60-й день исследования.

Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов показало, что дегельминтизация тетрагельминтоцидом стимулирует фагоцитарную активность нейтрофилов. Так, на 7-й день исследования содержание активных нейтрофилов в крови животных III опытной группы было в 1,5 раза выше ( $P < 0,01$ ), чем у животных II группы. К 30–60-му дню исследования количество активных нейтрофилов в крови животных приблизилось к показателям животных I группы.

Введение тималина также повысило активность нейтрофилов уже на 7-й день исследования на 43,06% ( $P < 0,001$ ) по сравнению с инвазированными животными контрольной группы. В дальнейшем в ходе исследования наблюдалось достоверное увеличение количества активных нейтрофилов, и к 60-му дню опыта содержание активных нейтрофилов в крови животных V группы было в 1,7 раза выше ( $P < 0,001$ ), чем у животных II группы.

При применении клозантима отмечалось некоторое угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов с 7-го по 14-й день наблюдения, но на 30-е сутки исследования фагоцитарная активность приблизилась к показателям животных I группы.

Для изучения влияния тетрагельминтоцида, клозантима и тималина на гуморальный иммунитет крупного рогатого скота в динамике мы определяли активность лизоцима в сыворотке крови, содержание иммунных комплексов, общего белка, альбумина,  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -глобулинов,  $\beta$ -глобулинов (комплемент  $C_3$  и трансферрин),  $\gamma$ -глобулинов и иммуноглобулины классов *G*, *M*, *A*.

Первоначальный показатель лизоцимной активности сыворотки крови до применения тетрагельминтоцида составлял 1,18 мкл/мл, а после введения препарата, к 14-му дню исследования, уровень лизоцимной активности резко увеличился, достигнув 1,42 мкл/мл, что на 16,90% выше показателя в первые дни наблюдений, а по сравнению с зараженными фасциолами животными – на 14,08% ( $P < 0,001$ ). В дальнейшем наблюдалась тенденция к повышению активности лизоцима сыворотки крови до 1,43–1,44 мкл/мл ( $P < 0,001$ ). Это свидетельствует о стимулирующем действии тетрагельминтоцида на уровень активности лизоцима в крови.

Под влиянием тималина происходило повышение активности лизоцима на протяжении всего периода исследования. Так, на 3-й день она превышала на 8,6% таковые показатели у зараженных животных. Начиная с 7-го по 60-й день активность лизоцима увеличилась на 17,21% ( $P < 0,001$ ).

После применения клозантима активность лизоцима сыворотки крови до 14-го дня изменилась незначительно, однако начиная с 30-го дня прослеживалось постепенное возрастание активности лизоцима на 8,13%, и к 60-му дню она достигла 13,14% ( $P < 0,01$ ).

Проведенные исследования по изучению содержания циркулирующих иммунных комплексов показали их выраженное понижение после введения тетрагельминтоцида на 30,78% ( $P < 0,01$ ) к 14-му дню исследования с последующим стойким снижением на 40,47% ( $P < 0,001$ ) на 60-е сутки наблюдения по отношению к зараженным фасциолами животным.

При введении тималина наблюдалась аналогичная тенденция к снижению уровня иммунных комплексов в сыворотке крови. Так, к 14-му дню и в последующие дни их содержание сравнивалось с таковыми у здоровых животных.

После дегельминтизации клозантимом у животных наблюдали некоторое снижение количества циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови с 0,45 ед/мкл в начале исследования до 0,30 ед/мкл в конце опыта. И только начиная с 30-го дня это снижение было статистически достоверно на 24,39–28,57% ( $P < 0,05$  и  $P < 0,01$ ), однако концентрация циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови оставалась повышенной по отношению к животным I группы.

При изучении влияния тетрагельминтоцида, клозантима и тималина на концентрацию общего белка в крови крупного рогатого скота, инвазированного фасциолами, установлено, что после дегельминтизации тетрагельминтоцидом идет выраженное повышение уровня общего белка на 9,64% ( $P < 0,05$ ) к 14-му дню исследования и до 19,70% ( $P < 0,01$ ) к 60-му дню наблюдений по сравнению с инвазированными фасциолами животными.

При введении тималина также наблюдалось повышение уровня общего белка в крови, которое достигло показателей животных I группы.

Показатель концентрации общего белка в крови крупного рогатого скота, дегельминтизированного клозантимом, незначительно увеличился к концу наблюдения, оставаясь ниже показателей III и IV опытных групп.

Полученные результаты свидетельствуют о значительном влиянии тетрагельминтоцида на восстановление нарушенных физиологических функций органов, в первую очередь печени, так как в ней идет синтез 80% различных белков.

Количество альбуминов сыворотки крови после обработки тетрагельминтоцидом через 14 дней увеличилось на 13,78% по сравнению с фоновым показателем и на 11,78% ( $P < 0,01$ ) по сравнению с животными II группы. К концу наблюдений этот показатель увеличился на 22,08% по сравнению с I группой, а по сравнению со II группой – на 27,54% ( $P < 0,001$ ).

При введении тималина также наблюдалось повышение уровня альбуминов сыворотки крови на 9,30% ( $P < 0,05$ ) к 14-му дню исследования с постепенным увеличением до 24,16% ( $P < 0,01$ ) на 60-е сутки наблюдения по сравнению со II группой.

Введение тетрагельминтоцида способствовало снижению уровня  $\alpha_2$ -глобулинов (церулоплазмин и гаптоглобин) на 28,72% ( $P < 0,01$ ) к 30-му дню исследования по сравнению с животными II группы. Церулоплазмин называют «реактантом острой фазы». Его содержание в крови повышается при острых и хронических воспалительных заболеваниях, протекающих с повреждением тканей [4]. Снижение его уровня после применения тетрагельминтоцида указывает на восстановительные процессы и улучшение общего состояния животных.

Повышение содержания  $\beta$ -глобулинов (комplement  $C_3$  и трансферрин) после лечения тетрагельминтоцидом является важным показателем стимулирования защитных сил организма, так как белки системы комплемента, действуя в сочетании с иммуноглобулинами, опсонизируют и лизируют чужеродные агенты.

В результате применения комплексного антгельминтика тетрагельминтоцида на 14-й день количество иммуноглобулинов  $G$  увеличилось на 15,38% ( $P < 0,01$ ) с постепенным увеличением до 55,79% ( $P < 0,001$ ) на 60-е сутки наблюдения по сравнению со II группой.

При введении тималина также наблюдалось повышение количества иммуноглобулинов  $G$  в сыворотке крови на 19,90% ( $P < 0,01$ ) к 14-му дню с постепенным увеличением до 40,54–52,97% ( $P < 0,001$ ) на 30–60-е сутки исследования по сравнению с животными II группы.

Показатель концентрации иммуноглобулинов  $G$  в крови крупного рогатого скота, дегельминтизированного клозантимом, увеличился только к концу наблюдения. Так, достоверное увеличение количества иммуноглобулинов  $G$  на 15,92–34,81% ( $P < 0,05–0,01$ ) происходило на 30–60-е сутки исследования по сравнению с животными II группы. Однако концентрация иммуноглобулинов  $G$  в сыворотке крови оставалась повышенной по отношению к здоровым животным.

Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии тетрагельминтоцида и тималина на гуморальное звено иммунитета и повышении защитных сил организма.

Известно, что паразитирование фасциол в печени животных обуславливает дистрофические изменения паренхимы, вызывает деструкцию гепатоцитов и повышение активности в сыворотке крови аспаратаминотрансферазы (АсАт), аланинаминотрансферазы (АлАт), щелочной фосфатазы (ЩФ) и билирубина. Это приводит к снижению обменных и синтезирующих процессов в печени, к нарушению белкового баланса в организме, что оказывает отрицательное влияние на иммуногенез и на защитные силы организма.

Применение антгельминтиков наряду с лечебным действием нередко вызывает повреждение мембран гепатоцитов. Веществами, способными ограничивать повреждения и стабилизировать биомембраны гепатоцитов, являются природные антиоксиданты: витамин *E*, селен, убихинон и др. [14, 15].

Наши исследования показали, что тетрагельминтоцид, содержащий в своем составе витамин *E*, ограничивает подъем активности АсАт и ЩФ после его применения по сравнению с клозантимом. Так, активность АсАт после введения клозантима возросла от 126,61 до 145,9 U/L на 3-й день исследования, т. е. на 19,9%. Активность ЩФ после введения клозантима увеличилась к 3-му дню исследования на 33,17% по сравнению с начальным показателем. Достоверное снижение активности АсАт и ЩФ на 45,25 и 51,93% ( $P < 0,01$ ) происходило на 60-е сутки исследования по сравнению с животными II группы.

После введения тетрагельминтоцида наблюдалось снижение коэффициента де Ритиса уже на вторую неделю после обработки до 1,9. На 60-й день исследования он составил 1,3, что свидетельствует о гепатопротективном действии данного препарата.

У животных, обработанных тималином, достоверное снижение активности аминотрансфераз и ЩФ происходило только к 30-му дню после применения препарата. Так, активность АсАт и ЩФ после введения тималина снизилась на 26,72% ( $P < 0,05$ ) и 40,54% ( $P < 0,01$ ) соответственно по сравнению с животными II группы.

Таким образом, полученные результаты указывают на целесообразность введения витамина *E* в состав тетрагельминтоцида как антиоксиданта, купирующего патологические процессы в печени у животных, инвазированных фасциолами, и после введения антгельминтиков. Применение комплексного антгельминтика существенно сокращает восстановление функции печени и ведет к повышению естественной резистентности организма.

## Выводы

1. При спонтанном заражении крупного рогатого скота фасциолами на фоне введения тетрагельминтоцида в дозе 50 мг/кг живой массы однократно повышаются количественные и функциональные показатели всех звеньев иммунитета, нормализуются физиологические функции печени: увеличивается количество *T*- и *B*-лимфоцитов в 2,87 и 1,75 раз соответственно, макрофагов – в 1,5 раза, повышается активность лизоцима – на 15,28%, уровень общего белка и основных белковых фракций – на 19,64%, возрастает в 2 раза концентрация иммуноглобулинов класса *G*, снижается активность АсАт, АлАт, ЩФ, коэффициент де Ритиса – до 1,3.

2. При дегельминтизации клозантимом уровень *T*- и *B*-лимфоцитов достоверно не изменился и был ниже уровня животных, дегельминтизированных тетрагельминтоцидом. Уровень общего белка, белковых фракций, лизоцима, иммуноглобулинов, макро- и микроэлементов незначительно увеличился к концу наблюдения, оставаясь ниже показателей III и IV групп. Введение клозантима приводило к увеличению активности ферментов аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы в крови животных с 3-го по 7-й день наблюдения.

3. При введении тималина количество *T*- и *B*-лимфоцитов увеличилось в 2,5 раза, макрофагов – на 43,65%, возросла активность лизоцима – на 17,21%, уровень общего белка – в 1,3 раза, концентрация иммуноглобулинов класса *G* – в 2 раза. Однако при применении тималина активность АсАт, АлАт, ЩФ оставалась высокой.

## Литература

1. Я куб ов с к и й М. В., Щ у р о в а Н. В., М я с ц о в а Т. Я. и др. Особенности эпизоотологии фасциоза крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. 2005. № 4. С. 28–34.
2. Л а в о р С. И. Эпизоотология фасциоза и желудочно-кишечных паразитозов жвачных в Белоруссии и меры борьбы с ними: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19; Бел. науч.-исслед. вет. ин-т. Минск, 1988.
3. Я куб ов с к и й М. В., К а р а с е в Н. Ф. Диагностика, терапия и профилактика паразитарных болезней животных. Минск: БИТ «Хата», 2001.
4. Иммуитет и его коррекция в ветеринарной медицине / П. А. Красочко [и др.]; Под общ. ред. П. А. Красочко. Смоленск, 2001.
5. Я куб ов с к и й М. В., М я с ц о в а Т. Я., Б е з б о р о д к и н А. Н., Д у б и ц к а я А. Ф. Влияние антгельминтиков на иммунный статус интактных от нематод животных // Весці Акадэміі аграрных навук Рэспублікі Беларусь. 1996. № 2. С. 14–18.
6. Ш е м я к о в а С. А. Иммунокорректирующая терапия при фасциозе крупного рогатого скота: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19; ВИГИС. М., 1999.
7. Д а х н о И. С. Эпизоотология, патогенез, этиотропная и иммунокорректирующая терапия при фасциозе и дикроцелиозе жвачных животных: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 03.00.18; Нац. аграр. ун-т. Харьков, 2001.
8. Д о в г и й Ю. Ю. Фасциоз крупного рогатого скота в условиях длительного влияния ионизирующего излучения (эпизоотология, патогенез и лечение): Автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.11; Нац. аграр. ун-т. Киев, 2005.
9. К у д р я в ц е в А. А., К у д р я в ц е в а Л. А. Клиническая гематология животных. М.: Колос, 1974.
10. Н о в и к о в Д. К., Н о в и к о в а В. И. Оценка иммунного статуса. Минск: Витебский медицинский институт, 1996.
11. Методическим указаниям по определению естественной резистентности и путей ее повышения у молодняка сельскохозяйственных животных / С. С. Абрамов, А. Ф. Могиленко, А. И. Ятусевич. Витебск, 1989.
12. Г р и н е в и ч Ю. А., А л ф е р о в А. Н. Определение иммунных комплексов // Лабораторное дело. 1981. № 8. С. 493–496.
13. Т о м п с о н Р. А. Последние достижения в клинической иммунологии / Под ред. Р. А. Томпсона; пер. с англ. Г. А. Космиади. М.: Медицина, 1983.
14. Г л у х о в а М. В. Профилактика и лечение осложнений после дегельминтизации коров гексихолом и поли-тремом: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.20, ВИГИС. М., 1994.
15. В о л к о в а Е. С. Экспериментальное моделирование патологии печени и механизмы ее коррекции: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19. Уфа, 2003.

*M. V. YAKUBOVSKY, N. UY. SHCHUROVA*

### EFFICIENCY OF COMPLEX ANGELMINTIC TO FASCIOLA INFECTION IN CATTLE

#### Summary

In the article the data on the specific features of immunity of cattle when infected with *Fasciola hepatica* are presented. The *Fasciola* infection has an immunosuppressive influence on the immune system of cattle. The influence of *Tetrahelmintacid* on the immune system of cattle when infected with *Fasciola hepatica* has been investigated. It has been established that the application of complex angelmintic – *Tetrahelmintacid* ensures increasing the immune response and decreasing the activity of transaminases whereas *Clozantim* exhibits an immunodepressive influence on the immune system of cattle.