ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ № 4 2011 СЕРЫЯ АГРАРНЫХ НАВУК

ЖЫВЁЛАГАДОЎЛЯ І ВЕТЭРЫНАРНАЯ МЕДЫЦЫНА

УЛК 619:616.995.132:612.017:636.2

М. В. ЯКУБОВСКИЙ, И. И. КУЗЬМИНСКИЙ

ИММУНИТЕТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ СТРОНГИЛЯТОЗАХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского

(Поступила в редакцию 05.10.2010)

Стронгилятозы желудочно-кишечного тракта до сих пор остаются важной составляющей инвазионной патологии животных, нанося значительный урон их здоровью, снижают их продуктивность и хозяйственную полезность, а также экономические показатели отрасли животноводства [1].

Гельминты в организме животных вызывают сложные и разнообразные патологические процессы, сопровождающиеся не только функциональными, но и целым рядом морфологических изменений, существенно влияя на жизненно важные функции органов и тканей. Они оказывают механическое, токсическое и аллергическое воздействие на организм хозяина, а также вызывают у него ряд защитных реакций [2, 3].

Также известно, что гельминты обладают и иммуносупрессивным действием на организм. В основе этого явления лежит способность гельминтов подавлять защитные реакции хозяина к другим инфицирующим его агентам. Кроме того, инвазирование кишечными нематодами снижает уровень поствакцинального иммунитета [4–6].

При развитии инвазионного процесса способность организма животного противостоять возбудителям гельминтозов определяется в основном активностью гуморальных и клеточных факторов защиты [7].

Основным способом борьбы с гельминтами является применение антгельминтиков, что не всегда дает ожидаемый результат, так как некоторые из них имеют свойства иммунодепрессантов [1, 6, 8, 9], поэтому для лечения целесообразно применять в комплексе антгельминтики и иммуностимулирующую терапию. Иммуномодуляторы, не влияя непосредственно на гельминтов, стимулируют в организме животных биологически активные компоненты иммунитета и нормализуют физиологические функции организма [1–8, 11, 10].

Цель настоящих исследований – изучение иммунитета крупного рогатого скота при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта и после применения животным противопаразитарных препаратов.

Впервые в сравнительном аспекте изучено влияние нового комплексного противопаразитарного препарата «Тетрагельминтоцид» на иммунобиологическую реактивность крупного рогатого скота, инвазированного стронгилятами желудочно-кишечного тракта, в частности на изменение количества лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, циркулирующих иммунных комплексов и иммуноглобулинов. Тетрагельминтоцид — новый отечественный комплексный антгельминтик широкого спектра действия, разработанный в отделе паразитологии Института экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. Препарат в своем составе содержит клозантел, альбендазол, левамизола гидрохлорид и токоферола ацетат.

Объекты и методы исследования. Исследования проводили в Пуховичском районе Минской области на базе ГП «Пуховичское» в период с августа по октябрь 2009 г. Объектом исследований был крупный рогатый скот, спонтанно инвазированный стронгилятами желудочно-кишечного тракта.

Для проведения опыта были подобраны по принципу аналогов коровы 3–5-й лактации, весом 500 кг, из которых были сформированы две опытные и контрольная группы, по 10 голов в каждой. В I опытной группе применяли противопаразитарный препарат тетрагельминтоцид в дозе 50 мг/кг, однократно с кормом. Во II опытной группе в качестве базового монокомпонентного антгельминтика был применен 7,5%-ный раствор левамизола гидрохлорида в дозе 2 мг/кг (по АДВ) однократно внутримышечно. В контрольной группе препараты не применялись. Условия кормления и содержания у животных всех групп были одинаковые.

Кровь у животных брали до лечения и через 7, 14, 30 и 60 дней после применения препаратов. Гематологические показатели (количество лейкоцитов) определяли по общепринятым в гематологии методикам. Подсчет лейкоформулы в мазках крови проводили после окраски их по Романовскому—Гимза. Изучение активности Т-систем иммунитета проводили по методу Д. К. Новикова в модификации А.Ф. Могиленко (1984) и М. Jondal (1981); количество В-лимфоцитов определяли по методу N.S. Mendes et al. (1984); общего белка и белковых фракций в сыворотке крови — с помощью электрофоретической системы SEBIA. Для определения циркулирующих иммунных комплексов использовали метод (Ю. А. Гриневич, Н. И. Алферова, 1981), основанный на селективной преципитации комплексов антиген-антитело в 3,75%-ном растворе полиэтиленгликоля с последующей фотометрией для установления плотности преципитата. Уровень иммуноглобулинов классов G, M, А выявляли посредством метода простой радиальной диффузии в геле по G. Мапсіпі (1965) в модификации Ю.Н. Федорова (1981).

Статистический анализ полученных данных был проведен с помощью пакетов прикладных программ Systat SigmaPlot 10 и Microsoft Office.

Результаты и их обсуждение. При гематологических исследованиях были получены следующие результаты. Количество лейкоцитов у инвазированных животных находилось в пределах $(7,45\pm0,26)-(7,76\pm0,16)\ 10^9/л$. После применения тетрагельминтоцида и 7,5%-ного раствора левамизола гидрохлорида на 14-й день наблюдалось снижение их уровня на $10,4\%\ (P<0,01)$ и $6,08\%\ (P<0,05)$ соответственно по сравнению с животными контрольной группы. Через месяц после дегельминтизации в I группе, где применяли тетрагельминтоцид, наблюдалось дальнейшее снижение уровня лейкоцитов — на $14,32\%\ (P<0,001)$, во II группе достоверных изменений не наблюдалось.

При анализе лейкоцитарной формулы (рис. 1) установлено, что у зараженных гельминтами животных уровень эозинофилов колебался в пределах $(7,60\pm0,75)$ — $(9,60\pm0,68)$ %. После дегельминтизации на 7-й день у коров I группы наблюдалось уменьшение количества эозинофилов на 28,61% (P < 0,05), в дальнейшем оно продолжало снижаться и на 30-й день было на 37,55% (P < 0,001) ниже. Во II опытной группе достоверные изменения количества эозинофилов наблюдались на 14-й день, при этом уровень эозинофилов снизился на 25,0% (P < 0,01).

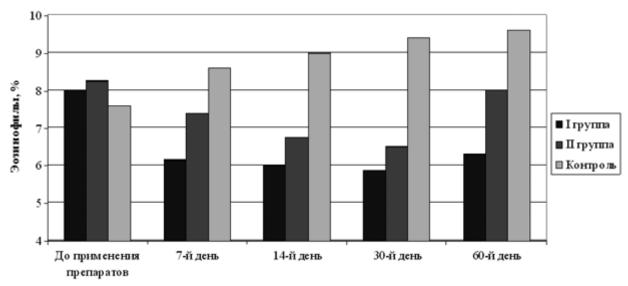


Рис. 1. Уровень эозинофилов после дегельминтизации коров

При анализе полученных данных видно, что у животных, инвазированых стронгилятами желудочно-кишечного тракта, в крови наблюдается лейкоцитоз и эозинофилия, которые снижаются после дегельминтизации.

При исследовании активности Т- и В-систем иммунитета (табл. 1) нами были получены следующие результаты. У инвазированых стронгилятами животных количество Т-лимфоцитов находилось в пределах $(30,60\pm1,44)-(33,80\pm2,04)\%$, а В-лимфоцитов $-(17,40\pm0,51)-(18,60\pm1,17)\%$. У животных, которым применялся тетрагельминтоцид, на 14-й день количество Т-лимфоцитов увеличилось на 10,35% (P < 0,05), а на 30-й и 60-й день — на 18,11% (P < 0,01) и 16,13% (P < 0,05). Уровень В-лимфоцитов к 30-му и 60-му дню повысился на 11,19% (P < 0,05) и 14,14% (P < 0,01) соответственно. Во II группе увеличение количества Т-лимфоцитов наблюдалось на 7-й и 14-й день — на 14,82 и 12,18% (P < 0,05), а уровень В-лимфоцитов достоверно не изменялся.

Таблица 1. Динамика активности Т- и В-лимфоцитов крови крупного рогатого скота при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта и при применении антгельминтиков, %

Вариант опыта	До применения препаратов	После применения препаратов							
		7-й день	14-й день	30-й день	60-й день				
Т-лимфоциты									
I опытная группа	32,57±1,33	31,71±1,55	34,43±0,65*	36,14±0,86**	36,00±0,66*				
II опытная группа	35,00±1,58	37,89±1,24*	35,00±0,94*	33,10±0,75	32,56±0,94				
Контрольная группа	33,80±2,04	33,00±2,17	31,20±1,16	30,60±1,44	31,00±1,58				
В-лимфоциты									
I опытная группа	19,29±0,75	18,29±0,57	18,40±0,75	19,57±0,57*	19,86±0,63**				
II опытная группа	18,56±0,78	19,44±0,56	18,44±0,73	17,89±0,68	17,11±0,61				
Контрольная группа	18,60±1,17	18,20±0,97	17,40±0,51	17,60±0,69	17,40±0,51				

^{*}P < 0.05; **P < 0.01. То же для табл. 2.

Количество общего белка в крови коров, зараженных стронгилятами желудочно-кишечного тракта, находилось в пределах ($85,97\pm2,07$)–($95,85\pm0,80$) г/л. У животных **II группы, где приме**нялся 7,5%-ный раствор левамизола гидрохлорида, на 14-й день уровень общего белка снизился на 4,71% (P < 0,05), а в I группе, где применяли тетрагельминтоцид, на 60-й день общий белок снизился на 5,95% (P < 0,01).

Основной причиной повышения концентрации альфа-1- и альфа-2-глобулинов являются воспалительные процессы. На 7-й день после применения тетрагельминтоцида наблюдалось снижение уровня альфа-1-глобулинов на 22,26% (P < 0,05), в состав этой фракции входит белок альфа-1-антитрипсин, который является ингибитором протеолитических ферментов. Уровень альфа-2-глобулинов на 60-й день понизился на 29,20% (P < 0,05). Также отмечено повышение уровня гамма-глобулинов на 30-й и 60-й дни – на 28,98% (P < 0,01) и 37,97% (P < 0,001). Фракция гамма-глобулинов состоит из иммуноглобулинов, представляющих собой антитела, которые обеспечивают гуморальный иммунитет и защиту организма. Понижение уровня белков этой фракции характерно при иммунодефицитных состояниях. Бета-глобулины на 14-й день повысились на 18,08% (P < 0,05). Фракция бета-глобулинов содержит белок трансферин и компоненты комплемента, которые участвуют в иммунных реакциях, и часть иммуноглобулинов.

Введение левамизола гидрохлорида способствовало увеличению количества бета-глобулинов к 14-му дню на 14,99% (P < 0,05). Уровень гамма-глобулинов на 60-й день увеличился на 35,71% (P < 0,001). Количество альфа-1- и альфа-2-глобулинов не изменялось.

После применения тетрагельминтоцида количество иммунных комплексов у коров снизилось на 14-й день на 14,71% (P < 0,05), к 30-му дню – на 17,14 % (P < 0,001) и на 60-й день – на 11,77 % (P < 0,05) (рис. 2). Во II группе, где примененялся левамизол гидрохлорид, на 30-й день установлено снижение уровня циркулирующих иммунных комплексов на 12,90% (P < 0,01).

У зараженных стронгилятами коров уровень IgA находился в пределах $(0,37\pm0,08)$ — $(0,73\pm0,17)$ мг/мл, IgM — $(2,61\pm0,09)$ — $(2,94\pm0,15)$ мг/мл, IgG — $(12,91\pm1,60)$ — $(14,09\pm1,98)$ мг/мл (табл. 2).

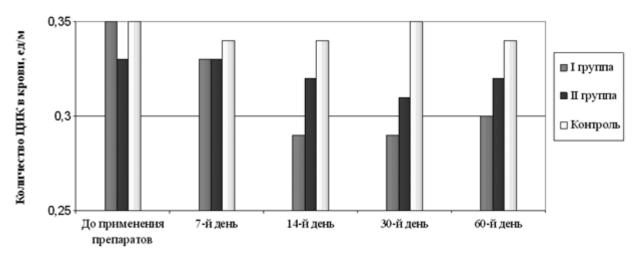


Рис. 2. Динамика циркулирующих иммунных комплексов после дегельминтизации коров

Таблица 2. Содержание иммуноглобулинов классов A, M и G в сыворотке крови коров после дегельминтизации, мг/мл

Вариант опыта	До применения препаратов	После применения препаратов						
		7-й день	14-й день	30-й день	60-й день			
		Ig A						
I группа	$0,36\pm0,12$	0,71±0,17	0,34±0,10	0,52±0,13	0,63±0,13			
II группа	$0,57\pm0,09$	0,48±0,12	0,45±0,09	0,58±0,12	0,49±0,15			
Контрольная группа	$0,51\pm0,15$	0,73±0,17	0,37±0,08	0,44±0,15	0,59±0,18			
Ig M								
I группа	$2,92\pm0,17$	3,19±0,18	2,87±0,12	3,12±0,11*	2,95±0,10			
II группа	2,94±0,26	2,71±0,18	2,79±0,10	3,01±0,18*	2,83±0,08			
Контрольная группа	2,87±0,16	2,89±0,12	2,94±0,15	2,61±0,09	2,77±0,10			
Ig~G								
I группа	15,04±1,64	14,00±1,64	15,67±1,20	18,49±1,14*	19,23±1,44**			
II группа	14,13±1,23	13,03±1,10	15,60±1,19	17,25±1,02	17,60±0,68*			
Контрольная группа	13,89±1,41	14,00±1,52	12,91±1,60	14,09±1,98	13,22±1,79			

После дегельминтизации на 30-й день в I опытной группе наблюдалось увеличение уровня IgM на 19,54% (P < 0,05), во II группе — на 15,33% (P < 0,05). Концентрация IgG в I группе, где применялся тетрагельминтоцид, на 30-й день повысилась на 31,23% (P < 0,05), на 60-й день — на 45,46% (P < 0,01). Во II группе, где применяли левамизол гидрохлорид, наблюдалось повышение уровня IgG на 31,13% (P < 0,05) через 60 дней. Уровень IgA во всех группах на протяжении всего опыта достоверно не изменялся.

Выводы

- 1. Поражение крупного рогатого скота стронгилятами желудочно-кишечного тракта вызывает повышение количества эозинофилов, лейкоцитов, общего белка и уровня циркулирующих иммунных комплексов, снижение количества Т- и В-лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов. Данные нарушения свидетельствуют о патогенном воздействии гельминтов на организм животных и снижении их иммунитета.
- 2. После применения инвазированным стронгилятами желудочно-кишечного тракта коровам комплексного препарата тетрагельминтоцид, содержащего иммуностимулирующий компонент, уровень лейкоцитов и эозинофилов снижается на 14,32 и 37,55% (P < 0,001), количество Т- и В-лимфоцитов увеличивается на 18,11 и 14,14% (P < 0,01), уровень IgM и IgG повышается на 19,54% (P < 0,05) и 45,46% (P < 0,01), что свидетельствует о повышении иммунитета животных после дегельминтизации.

3. Применение инвазированым стронгилятами желудочно-кишечного тракта коровам левамизола гидрохлорида приводит к снижению в крови количества лейкоцитов и эозинофилов на 6,08% (P < 0,05) и 25,0% (P < 0,01), к увеличению количества Т-лимфоцитов на 14,82% (P < 0,05), к снижению уровня общего белка и циркулирующих иммунных комплексов на 4,71% (P < 0,05) и 12,90% (P < 0,01) и увеличению количества иммуноглобулинов.

Литература

- 1. То п а л а, А. С. Эпизоотологический мониторинг и лечебно-реабилитационные мероприятия при стронгилятозах овец: автореф. ... дис. канд. вет. наук: 03.00.19 / А. С. Топала; Гос. с.-х. акад. Нижний Новгород, 2008. 22 с.
- 2. Я к у б о в с к и й, М. В. Желудочно-кишечные стронгилятозы крупного рогатого скота / М. В. Якубовский, И. И. Кузьминский // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. -2009. -№ 3. -C. 15-18.
- 3. Я к у б о в с к и й, М. В. Паразитарные зоонозы: особенности патогенеза и современные меры борьбы (сообщ. II) / М. В. Якубовский // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. 2007. № 4. С. 20–27.
- 4. А р и н к и н, А. В. Особенности иммунитета животных при гельминтозах/ А. В. Аринкин, Э. Х. Даугалиева, К. Г. Курочкина // Ветеринария. 1996. № 7. С. 37–38.
- 5. Даугалиева, Э. Х. Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных / Э. Х. Даугалиева, В. В. Филиппов. М.: Агропромиздат, 1991. 186 с.
- 6. Я к у б о в с к и й, М. В. Иммунитет при гельминтозах животных / М. В. Якубовский // Вес. Акад. аграр. навук Рэсп. Беларусь. -1997. -№ 4. -C. 74–77.
- 7. Ш е м я к о в а, С. А. Иммунитет при гельминтозах животных: учеб. пособие / С. А. Шемякова, М. Ш. Акбаев, Н. В. Есаулова; ФГОУВПО Московская гос. акад. вет. мед. и биотехн. им. К. И. Скрябина. М., 2005. 208 с.
- $8.\ \Pi$ е т р о в, $B.\ B.\ Комплексный подход к лечению гельминтозов у жвачных животных / <math>B.\ B.\ Петров$, $H.\ B.\ Бар-калова // Экология и инновации: материалы VII Междунар. научн.-практ. конф., Витебск, <math>22–23$ мая 2008 г. / МСХи Π РБ, УО ВГАВМ. Витебск, 2008. $C.\ 209–210.$
- 9. Ф и л и п п о в, В. В. Теоретические основы иммунопрофилактики гельминтозов/ В. В. Филиппов, Э. Х. Даугалиева // Вест. с.-х. науки. 1991. 10. С. 136—141.
- 10. Л и п н и ц к и й, С. С. Восстановительная терапия крупного рогатого скота при фасциолезе в ассоциации со стронгилятозами / С. С. Липницкий // Ветеринарная наука производству: межвед. сб. / Белорус. науч.-исслед. ин-т экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. Минск, 1991. Вып. 29. С. 94–99.
- 11. Ш у н ь к о, Л. А. Применение иммуностимуляторов при ассоциативных легочных и желудочно-кишечных стронгилятозах овец / Л. А. Шунько // Ветеринарная наука производству: межвед. сб. / Белорус. науч.-исслед. ин-т экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. Минск, 1991. Вып. 29. С. 120–122.

M. V. YAKYBOVSKY, I. I. KUZMINSKY

IMMUNITY OF CATLLE AT GASTROENTERIC NEMATODES

Summary

The article deals with the data on the research of dynamics of some immunity and blood indices after deworming of animals against gastrointestinal nematodes. On the example of the domestic complex preparation "Tetragelmintocid" the advantages of the simultaneous use of antiparasitic preparation and immunostimulants are shown.