

УДК 619:616.99:615.284:612.017:636.2.053

М. В. ЯКУБОВСКИЙ, В. П. ОЛЕНИЧ

**ВЛИЯНИЕ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ И КОМПЛЕКСНОГО АНТГЕЛЬМИНТИКА
НА ИММУНИТЕТ ТЕЛЯТ ПРИ АССОЦИАТИВНЫХ ПАЗИТОЗАХ
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА**

Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелеского

(Поступила в редакцию 12.03.2012)

Паразитарные болезни животных оказывают отрицательное влияние на организм, в том числе снижают привесы, уменьшают удой молока, при сильном заражении возможен и падеж. Они резко снижают иммунитет, в том числе и поствакцинальный.

Паразиты обладают иммуносупрессивным действием на организм. В основе этого явления лежит способность их подавлять защитные реакции хозяина к другим инфицирующим его агентам. Одним из механизмов этой гетерологичной иммуносупрессии может быть феномен конкуренции антигенов, при котором Т-лимфоциты, активированные антигенами гельминтов, подавляют способность В-лимфоцитов вырабатывать антитела к антигенам второго инфицирующего агента. При появлении в организме хозяина под влиянием антигенов гельминтов большого количества Т-лимфоцитов-супрессоров, подавляющих метаболизм других субпопуляций Т-лимфоцитов, может развиваться иммунологическая толерантность, которая является вторым механизмом иммуносупрессии. Важным механизмом иммуносупрессии, как теперь установлено, является подавление пролиферации Т- и В-лимфоцитов особыми цитотоксическими веществами, продуцируемыми гельминтами [1, 2].

Поэтому одной из проблем в паразитологии является разработка и применение современных, эффективных, доступных и достаточно недорогих противопаразитарных препаратов. В настоящее время существует много препаратов, большинство из которых монокомпонентные, к которым возникает привыкание со стороны паразитических организмов. Это приводит к снижению эффективности препаратов, массовому распространению паразитозов. Помимо привыкания монокомпонентные препараты обладают и иммуносупрессивным действием, и применение их животным, у которых понижен иммунитет при паразитозах, приводит к резкому снижению иммунитета. В связи с этим в состав комплексных антгельминтиков необходимо вводить иммуностимуляторы, антиоксиданты и другие препараты, улучшающие здоровье животных.

Исследования, проведенные М. В. Якубовским с соавт. (1990, 1996), показали, что применение некоторых антгельминтиков может оказывать отрицательное влияние на иммунный статус организма животных. Так, дегельминтизация телят албендазолом в дозе 7,5 мг/кг по АДВ вызывает снижение количества Т-лимфоцитов до 10-го дня после дачи препарата. Ивермектин в дозе 200 мкг/кг подкожно вызывает снижение количества Т-лимфоцитов у телят до 15-го дня после дачи препарата. При введении нилверма в дозе 0,007 г/кг по АДВ у зараженных животных отмечали снижение уровня Т-лимфоцитов до 7-го дня после дегельминтизации, а также диспротеинемию [3, 4].

В настоящее время особое внимание уделяется экологически безвредным препаратам – иммуностимуляторам. Особенностью иммуностимулирующих препаратов является их высокая биологическая активность, направленная на активизацию иммунитета и обменных процессов у животных, в результате чего организм животного самостоятельно избавляется от паразитов. Кроме этого иммуностимуляторы выгодно отличаются от антгельминтиков тем, что не оказыва-

ют побочного действия, не накапливаются в органах и тканях животного, не вызывают привыкания со стороны паразитов и не загрязняют окружающую среду [2, 5–8].

В паразитологии нашли применение такие иммуностимуляторы, как иммунопаразитан, левамизол, вегетан, градекс, Т- и В-активин и многие другие. Не влияя непосредственно на гельминтов, они стимулируют в организме животных все звенья иммунитета, что позволяет бороться с паразитами за счет естественных сил организма и длительно поддерживать невосприимчивость к инвазионным заболеваниям [2, 9].

Применение иммуностимуляторов при паразитозах животных способствует профилактике заражения или элиминации гельминтов из организма, повышению эффективности дегельминтизации, а в ряде случаев снимает или снижает их иммуносупрессивное действие, а также повышает уровень поствакцинального иммунитета у инвазированных гельминтами организмов [10].

Цель исследований – определение влияния иммуностимуляторов и комплексного антгельминтика на иммунитет телят при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта.

Объекты и методы исследования. Влияние иммуностимуляторов и комплексного антгельминтика на иммунитет у телят при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта изучали в хозяйствах Логойского района Минской области в 2011–2012 гг. Объектом исследований являлись телята в возрасте 3–3,5 мес., спонтанно инвазированные ассоциацией паразитов желудочно-кишечного тракта.

Для этого было подобрано по принципу условных аналогов пять групп телят по 7 гол. (4 опытных и 1 контрольная). Животные всех групп были инвазированы стронгилоидами до 100%, стронгилятами желудочно-кишечного тракта – 42,85–57,14%, балантидиями – 57,14–85,71%, эймериями – 71,42–100%. Животным I группы применяли иммуностимулирующий препарат циклоферон в дозе 500 мг на животное внутримышечно; II группе – антипаразитарный препарат полипарацид в дозе 75 мг/кг живой массы, препарат задавался индивидуально *per os*; III группе животных – полипарацид в дозе 50 мг/кг живой массы, препарат задавался индивидуально *per os*; IV группе – иммуностимулятор альвеозан в дозе 3 мл на животное внутримышечно. Все препараты применяли утром два дня подряд. V группе телят препарат не применяли, она служила контролем.

Для изучения показателей иммунитета от телят всех групп брали кровь до дачи препаратов и на 7, 14, 28 и 62-й дни после применения препаратов.

В те же сроки исследовали фекалии по методу Г. А. Котельникова – В. М. Хренова (1974) – для обнаружения яиц гельминтов и ооцист эймерий [11]. По методу А. Ф. Манжоса (1984) определяли число балантидий в 1 мл фекалий [12].

Количество эритроцитов и лейкоцитов, уровень гемоглобина в крови определяли с помощью анализатора Medonic SA-620. Лейкоцитарную формулу выводили на основании подсчета 100 клеток в мазках крови, окрашенных по Романовскому–Гимза согласно рекомендациям А. А. Кудрявцева и Л. А. Кудрявцевой (1974) [13]. Определение Т- и В-лимфоцитов проводили по методике Д. К. Новикова и В. И. Новиковой (1996) [14]. Субпопуляции Т-лимфоцитов, различающихся по чувствительности Е-розеткообразование к теофилину, оценивали методом S. Limatibul et. al. (1978) [15]. Для определения циркулирующих иммунных комплексов использовали метод Ю. А. Гриневич и Н. И. Алферова (1981) [16].

Объем проводимых исследований: паразитологических – 700, гематологических – 175, иммунологических – 700. Статистический анализ полученных данных проводили с помощью прикладных программ Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждения. Исследования показали, что после применения препаратов у животных отклонений от физиологической нормы не наблюдалось. Так, экстенсэффективность циклоферона через 7 дней после дегельминтизации при стронгилоидозе составила 57,15%, при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта – 62,5%, при эймериозе – 33,33%, при балантидиозе – 50,00%.

Экстенсэффективность полипарацида в дозе 75 мг/кг живой массы через 7 дней при стронгилоидозе составила 100%, при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта – 100%, при эймериозе – 64,29%, при балантидиозе – 77,77%.

Экстенсивность полипарацита в дозе 50 мг/кг живой массы через 7 дней при стронгилоидозе составила 85,72%, при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта – 100%, при эймериозе – 52,38%, при балантидиозе – 77,77%.

Экстенсивность альвеозана через 7 дней при стронгилоидозе составила 42,86%, при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта – 43,77%, при эймериозе – 33,33%, при балантидиозе – 60,0%.

После применения антипаразитарного препарата полипарацид в дозе 75 и 50 мг/кг живой массы, не содержащего в своем составе активные субстанции против протозоозов, которые присутствовали в данной ассоциации паразитоценоза желудочно-кишечного тракта обследуемых телят, произошло снижение экстенсивности и интенсивности инвазии эймериоза и балантидиоза, это связано с тем, что между сочленами паразитов в ассоциации сложилась определенная взаимосвязь, и когда данный препарат губительно подействовал на гельминты, то для остальных сочленов ассоциации были созданы неблагоприятные условия паразитирования.

Применение иммуностимуляторов способствовало повышению иммунитета, тем самым организм телят смог самостоятельно освободиться от части паразитов и в течение продолжительного времени избежать повторного заражения.

При анализе лейкоцитарной формулы установлено, что у зараженных паразитами животных уровень эозинофилов (рис. 1) колебался в пределах 7,14–7,71%, однако через 7 дней после дегельминтизации их количество уменьшилось на 66,51% ($P<0,01$) у телят, получивших полипарацид в дозе 75 мг/кг живой массы, и на 63,01% ($P<0,01$) у телят, получивших его в дозе 50 мг/кг живой массы, по сравнению с контролем. После применения иммуностимуляторов циклоферона и альвеозана достоверных изменений в процентном соотношении эозинофилов в этот период не выявлено, однако через 14 и 28 дней число эозинофилов после введения циклоферона снизилось в 2,42 и 2,73 ($P<0,001$) раза; после введения альвеозана – в 2,28 и 2,18 ($P<0,001$) раза. У телят опытных групп на протяжении всего периода исследований после применения химиотерапевтических средств количество эозинофилов было небольшим по сравнению с показателями контрольной группы. Это свидетельствует о снижении инвазии паразитами и нормализации клеточного звена иммунитета. С помощью полипарацита было достигнуто скорейшее снижение числа эозинофилов, но после применения иммуностимуляторов был получен результат наименьшего процентного соотношения этих клеток крови.

Количество палочкоядерных нейтрофилов через 7 дней после применения циклоферона уменьшилось на 27,35% ($P<0,01$) (рис. 2), через 14 дней после применения препаратов уменьшилось у всех опытных групп ($P<0,05$). Снижение палочкоядерных нейтрофилов свидетельствует о затухании воспалительного процесса в организме телят.

Ведущая роль в обеспечении клеточного иммунитета организма принадлежит лимфоцитам. Их популяция гетерогенна по своему составу и представлена многочисленными субпопуляция-

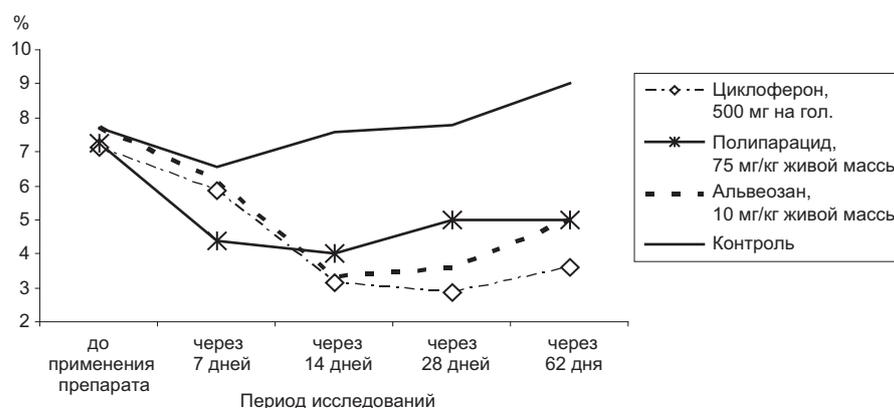


Рис. 1. Динамика эозинофилов крови телят после применения химиопрепаратов при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта

ми, основными из которых являются Т-клетки (тимусзависимые лимфоциты) и В-клетки (лимфоциты, зависимые от костного мозга). Максимальное количество лимфоцитов было отмечено у телят I группы через 14–28 дней после внутримышечного введения иммуностимулятора циклоферона, что на 11,71–9,6% ($P<0,001$) больше, чем у телят контрольной группы.

У инвазированных животных уровень Т и В, а также субпопуляции Т-лимфоцитов находился ниже физиологической нормы, что свидетельствует о низком иммунном статусе телят. После проведенного курса лечения в течение всего периода исследований наблюдалось статистически достоверное повышение уровня Т- и В-розеткообразующих лимфоцитов и Т-хелперов, что свидетельствует об активации клеточного звена иммунитета. После применения полипарацита через 7 дней в дозе 75 и 50 мг/кг живой массы было отмечено увеличение уровня розеткообразующих Т-лимфоцитов в 1,86 ($P<0,001$) и в 1,84 ($P<0,001$) раза. Наивысший уровень Т-лимфоцитов наблюдался у телят I группы через 28 дней после введения циклоферона и составил 44,28%, что в 2,03 раза выше показателей контрольной группы ($P<0,001$).

Высокие показатели Т-хелперов у телят I группы были достигнуты через 28 дней после применения циклоферона, что в 2,22 раза выше показателей группы контроля ($P<0,001$). В этот же период наблюдался высокий уровень Т-хелперов у телят II группы после применения полипарацита в дозе 75 мг/кг живой массы – 22,83%, что в 2,07 раза выше уровня группы контрольных животных ($P<0,001$). После применения полипарацита в дозе 50 мг/кг живой массы и иммуностимулятора альвеозана максимальные результаты уровня Т-хелперов были получены через 14 дней, что в 1,76 ($P<0,001$) и 1,82 ($P<0,001$) раза выше показателей контрольной группы.

Через 7 дней после химиотерапии статистически достоверное увеличение В-лимфоцитов наблюдалось только после применения антипаразитарного препарата полипарацита в дозах 75 и 50 мг/кг живой массы. Эти показатели были выше в 1,87 ($P<0,001$) и 1,97 ($P<0,001$) раза, чем в группе контрольных животных. Максимальное количество В-лимфоцитов (23,0%) наблюдалось у телят I группы через 28 дней после внутримышечного введения иммуностимулятора циклоферона, что в 2,35 ($P<0,001$) раза выше количества В-лимфоцитов у контрольных телят.

Увеличение количества Т- и В-лимфоцитов, субпопуляции Т-лимфоцитов в пределах физиологической нормы способствует стабилизации клеточного звена иммунитета.

На 62-й день после применения препаратов – иммуностимуляторов и полипарацита – у телят опытных групп отмечалось снижение уровня Т- и В-лимфоцитов, а также субпопуляции Т-лимфоцитов, что объясняется новым заражением паразитами желудочно-кишечного тракта, однако их уровень оставался достоверно высоким по сравнению с группой контроля, что подтверждает длительный иммуностимулирующий эффект препаратов. Наилучшие результаты по влиянию на анализируемые показатели были получены после применения полипарацита в дозе 75 мг/кг живой массы, так как он обладает быстрой и более высокой эффективностью по влия-

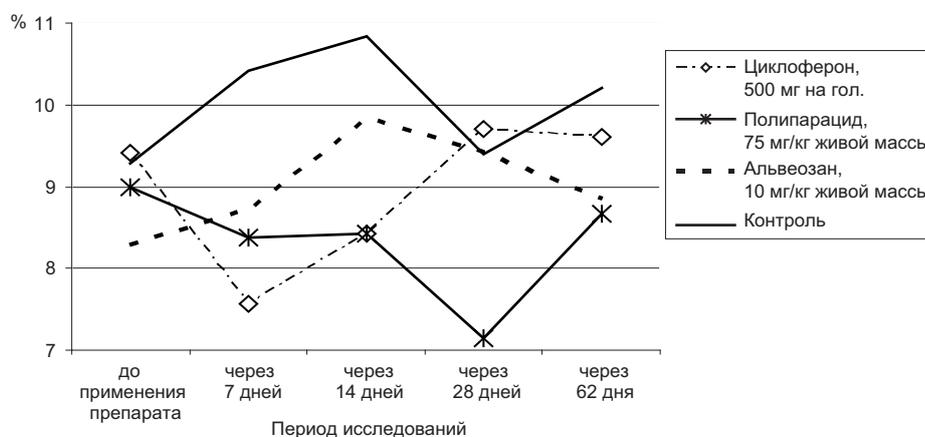


Рис. 2. Динамика палочкоядерных нейтрофилов крови телят после применения химиопрепаратов при ассоциативных паразитазах желудочно-кишечного тракта

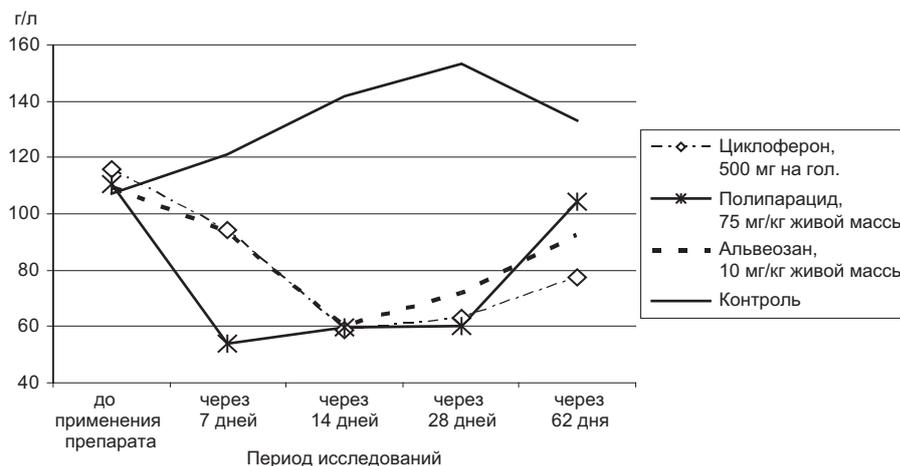


Рис. 3. Динамика циркулирующих иммунных комплексов сыворотки крови телят после применения химиопрепаратов при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта

нию на уровень клеточного иммунитета, и иммуностимулятора циклоферон, так как он продолжительнее всего стабилизировал иммунную систему.

Циркулирующим иммунным комплексам придается важное значение в патологии широкого спектра заболеваний внутренних органов, в том числе и паразитарной этиологии. Образование комплексов антиген–антитело является одним из компонентов нормального развития иммунного ответа.

У телят, зараженных ассоциациями паразитов желудочно-кишечного тракта, в крови отмечен повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов (рис. 3), что свидетельствует о наличии специфических взаимодействий антиген–антитело. Циркулирующие иммунные комплексы увеличиваются за счет накопления малых иммунных комплексов, которые обуславливают появление иммуносупрессии. Через 7 дней после применения антипаразитарного препарата в дозах 75 и 50 мг/кг живой массы уровень циркулирующих иммунных комплексов снизился на 55,6% ($P < 0,001$) и на 52,41% ($P < 0,001$) по сравнению с данными контрольной группы. Через 14 дней после применения препаратов статистически достоверное ($P < 0,001$) снижение уровня циркулирующих иммунных комплексов отмечено у всех опытных групп. Максимальное снижение иммунных комплексов произошло через 28 дней после применения иммуностимулятора циклоферон – на 58,83% ($P < 0,001$) и антипаразитарного препарата полипарацид в дозе 75 мг/кг живой массы – на 60,88% ($P < 0,01$). До конца исследований уровень циркулирующих иммунных комплексов у всех обработанных химиопрепаратами телят был ниже, чем у телят, которым препараты не применяли, однако статистически достоверное снижение циркулирующих иммунных комплексов в этот период было отмечено у телят I и IV групп – на 41,81% ($P < 0,01$) и 30,78% ($P < 0,05$) соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о том, что все применяемые препараты нормализуют уровень циркулирующих иммунных комплексов. Восстановление данного уровня в более короткий срок произошло после применения полипарацита в дозах 75 и 50 мг/кг живой массы, но более стойкое действие оказал препарат циклоферон.

Выводы

1. Высокоэффективным в отношении паразитов желудочно-кишечного тракта телят является полипарацид в дозе 75 мг/кг живой массы. Экстенсивность при стронгилоидозе и стронгилятозах желудочно-кишечного тракта составила 100%, при эймериозе – 64,29%, при балантидиозе – 77,77%.

2. Применение полипарацита телятам в дозах 75 и 50 мг/кг живой массы и иммуностимуляторов обеспечивает повышение иммунитета: снижение эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и циркулирующих иммунных комплексов, повышение уровня Т- и В-лимфоцитов и Т-хелперов. Наилучшими иммуностимулирующими свойствами обладает циклоферон.

Литература

1. *Ершов, В. С.* Проблемы иммунитета и аллергии при гельминтозах / В. С. Ершов // Пробл. вет. иммунологии. – М., 1985. – С. 17–22.
2. *Даугалиева, Э. Х.* Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных / Э. Х. Даугалиева, В. В. Филиппов. – М.: Колос, 1991. – 188 с.
3. Влияние антгельминтиков на иммунный статус интактных от нематод животных / М. В. Якубовский [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. с.-г. наук. – 1996. – № 2. – С. 14–18.
4. Эффективность иммуностимуляторов при гельминтозах животных / М. В. Якубовский [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. с.-г. наук. – 1990. – № 3. – С. 112–117.
5. *Гаджиева, И. А.* Иммунное состояние животных при гельминтозах и возможность его модулирования: автореф. дис. ...канд. вет. наук: 03.00.20 / И. А. Гаджиева; ВИГИС. – М., 1986. – 19 с.
6. *Дахно, И. С.* Эпизоотология, патогенез, этиотропная и иммунокорректирующая терапия при фасциолезе и дикроцелиозе жвачных животных: автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 03.00.18 / И. С. Дахно; Нац. аграр. ун-т. – Харьков, 2001. – 34 с.
7. *Довгий, Ю. Ю.* Фасциолез крупного рогатого скота в условиях длительного влияния ионизирующего излучения (эпизоотология, патогенез и лечение): автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.11 / Ю. Ю. Довгий; Нац. аграр. ун-т. – Киев, 2005. – 34 с.
8. Иммунитет и его коррекция в ветеринарной медицине / П. А. Красочко [и др.]; под общ. ред. П. А. Красочко. – Смоленск, 2001. – 322 с.
9. *Щурова, Н. Ю.* Использование иммуностимуляторов для терапии фасциолеза крупного рогатого скота / Н. Ю. Щурова // Ветеринарная наука – производству: сб. науч. тр. / РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеселского». – Минск, 2007. – С. 293–298.
10. *Якубовский, М. В.* Иммунитет при гельминтозах животных / М. В. Якубовский // Изв. Акад. аграр. наук Респ. Беларусь. – 1997. – № 4. – С. 74–77.
11. *Котельников, Г. А.* Гельминтологические исследования животных и окружающей среды: справочник / Г. А. Котельников. – М.: Колос, 1984. – 208 с.
12. *Манжос, А. Ф.* Диагностика балантидиоза свиней / А. Ф. Манжос, В. С. Сумцов // Ветеринария. – 1982. – № 3. – С. 43–44.
13. *Кудрявцев, А. А.* Клиническая гематология животных / А. А. Кудрявцев, Л. А. Кудрявцева. – М.: Колос, 1974. – 399 с.
14. *Новиков, Д. К.* Оценка иммунного статуса / Д. К. Новиков, В. И. Новикова. – Минск: Витебский мед. ин-т, 1996. – 286 с.
15. Teophyllini modulation of E-rosette formation: indicator of T-cell maturation / S. Limatibul [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 1978. – Vol. 33. – P. 503–513.
16. *Гриневич, Ю. А.* Определение иммунных комплексов / Ю. А. Гриневич, А. Н. Алферов // Лабораторное дело. – 1981. – № 8. – С. 493–496.

M. V. YAKUBOVSKIY, V. P. OLENICH

INFLUENCE OF IMMUNOSTIMULANTS AND COMPLEX ANTIGELMINTIC ON THE IMMUNITY OF CALVES WITH ASSOCIATIVE PARASITIC DISEASES OF GASTROINTESTINAL TRACT

Summary

The paper presents the results of research of leucogram, T- and B-lymphocytes levels, T-helpers, circulating immune complexes before and after the use of immunostimulants and complex antiparasitic preparation against associated parasitic diseases of gastrointestinal tract of calves.