УДК:619:615.28:616.99 – 085

Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор
Красочко И.А., доктор ветеринарных наук, профессор
Щемелева Н.Ю., кандидат ветеринарных наук

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВОГО ПРЕПАРАТА «ИММУНОВЕТ»

Резюме

В статье приводятся результаты по оценке влияния нового препарата «Иммуновет» на иммунитет телят. Применение нового препарата дало возможность значительно улучшить иммунологические показатели животных, инвазированных паразитами, и, тем самым, снизить уровень инвазии.

Summary

In the article the data on comparison of new drug «Immunovet» immunology efficiency in animal parasite diseases are described. The new drug «Immunovet» showed to be highly immunology efficiency against parasite in cattle.

Поступила в редакцию 19.05.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система организма животных – одна из сложнейших, и ее роль трудно переоценить. Она различает самые разнообразные чужеродные агенты – микробные, вирусные, паразитарные и определяет против них соответствующие реакции. С ее участием осуществляются инфекционные, воспалительные, аллергические, аутоиммунные и другие процессы [1].

Нормально функционирующая иммунная система обеспечивает организму животного выживаемость, а ее расстройства являются причиной ряда заболеваний. Как правило, среди патологий иммунной системы наиболее часто встречаются приобретенные вторичные иммунодефициты. Особое место среди болезней, вызывающих вторичные иммунодефициты, занимают паразитарные [2].

Для всех паразитарных инвазий характерна иммуносупрессия, она касается как гуморального, так и клеточного ответа и имеет свои особенности. Некоторые паразиты непосредственно вызывают разрушение лимфоидных клеток, однако в большинстве случаев подавление иммунного ответа происходит путем инактивации макрофагов и Т-клеток [1,4]. Так как инвазия паразитами приводит к значительному снижению иммунитета организма, нарушению нормофлоры кишечника, интоксикации, то легко происходит инфицирование животных возбудителями вирусной и бактериальной природы. Чаще всего это вирусы парагриппа-3, вирусной диареи, рота-, корона- и парвовирусной инфекции. Все это приводит к длительному течению болезни, гибели и неблагополучию хозяйств.

На настоящий момент, как показывает эпизоотическая ситуация, на долю желудочно-кишечных заболеваний вирусной природы (вирусная диарея, рота-, корона- и парвовирусная инфекция) приходится 55,0 – 70,0% и до 100%. Смертность и вынужденный убой при данных болезнях составляет от 5% до 50–70% от количества заболевших.

Изучение эпизоотической ситуации по паразитозам крупного рогатого скота в последние годы показало, что имеет место значительное инвазирование животных

нематодами желудочно-кишечного тракта, фасциолами, стронгилоидами, эймериями, криптоспоридиями, чаще регистрируется диктиокаулез, балантидиоз и другие паразитозы. В отдельных хозяйствах инвазированность желудочно-кишечными стронгилятами крупного рогатого скота по данным наших исследований за 2013–2014 гг. достигает 72,2–90,0%, что приводит к значительным потерям продуктивности, ухудшению качества животноводческой продукции [5].

На настоящий момент, как показывает практика, традиционная терапия паразитарных болезней и возникающих на их фоне вирусных инфекций не решает данную проблему по ряду причин:

– при лечении данной группы болезней обычно применяется сразу несколько лечебных средств – антгельминтики, антибиотики, сульфаниламиды и др., при этом идет серьезная нагрузка на ослабленный организм животного, нередко такое лечение имеет отрицательные последствия.

– лечение с использованием целого ряда лекарственных средств, чаще всего импортного производства, требует не малых денежных средств, которые не всегда есть в животноводческих хозяйствах республики.

Поэтому на сегодняшний момент наиболее актуальным является создание оригинальных отечественных препаратов широкого спектра действия. Особенностью данных препаратов должна быть их высокая терапевтическая активность, направленная на снижение паразитарной инвазии и вирусной инфекции, а также повышение иммунитета, обменных и антиоксидантных процессов у животных, что в целом помогает организму самостоятельно избавиться от паразитарных и вирусных агентов. Применение препаратов такого класса позволит значительно снизить химическую нагрузку действующих веществ на ослабленный организм животного.

В этой связи разработка и внедрение в практику ветеринарии отечественных высокоэффективных иммуностимулирующих препаратов широкого спектра действия является одной из наиболее актуальных задач.

Цель – проведение иммунологической оценки нового отечественного препарата «Иммуновет» с использованием современных иммунологических тестов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения иммунологической оценки препарата «Иммуновет» и изучения влияния его на иммунитет сельскохозяйственных животных были применены дозы и кратность введения препарата, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Схема отработки оптимальных доз иммуностимулирующего препарата «Иммуновет» на основе бактериального липополисахарида при ассоциативных паразитозах телят

Группы животных	Доза препарата	Кратность введения	Количество животных в группе, гол
опытная группа № 1	5 мкг/кг	1 раз в день 3 дня подряд	10
опытная группа № 2	10 мкг/кг	1 раз в день 3 дня подряд	10
контрольная группа	–	–	10

Для проведения иммунологических исследований были подобраны телята 3–4-месячного возраста живой массой 50–60 кг в количестве 30 голов, спонтанно инвазированные ассоциацией паразитов желудочно-кишечного тракта (стронгилоидами с экстенсивностью инвазии 90%, желудочно-кишечными стронгилятами с экстенсивностью инвазии 83,3%, эймериями с экстенсивностью инвазии 100%), от кото-

рых отбирали пробы крови до применения препарата и через 7, 14, 30 дней после его введения.

Определяли следующие показатели клеточного иммунитета: количество лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, макрофагов, уровень розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов – по методике Д.К. Новикова, В.И. Новиковой, 1996; показатели гуморального иммунитета: количество циркулирующих иммунных комплексов – по методу Ю.А. Гриневич, И.И. Алферова, 1981; белковые фракции, включая иммуноглобулины, белки системы комплимента С3 и др., иммунобиохимические показатели сыворотки крови (содержание общего белка, активность ферментов печени, уровень кальция, фосфора) с использованием наборов Cormey на биохимическом анализаторе Dialab.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований установлено, что при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта телят наблюдается значительное угнетение клеточного и гуморального звена иммунитета. Отмечается низкий уровень розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов, лейкоцитоз, увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов на 32,5% (P<0,001) с преобладанием иммунных комплексов малого размера, обладающих высоким патогенным потенциалом, снижение уровня иммуноглобулинов и белков системы комплимента, биогенных макроэлементов.

В наших экспериментах по применению нового иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида в дозах 5 и 10 мкг АДВ/кг живой массы, проведенных на телятах, спонтанно инвазированных ассоциативными паразитами желудочно-кишечного тракта (эймериями, стронгилятами желудочно-кишечного тракта, стронгилоидами), выявлены существенные положительные сдвиги в Т- и В-системах клеточного иммунитета, иммунных комплексах, белковых фракциях, обусловленные действием иммуностимулирующего препарата. Исходя из статистического анализа полученных опытных данных (таблицы 2–10), установлено, что применение препарата в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы один раз в день в течение трех дней подряд наиболее полно и быстрее нормализует иммунитет у инвазированных телят. Так, во второй опытной группе телят, где применяли препарат в дозе 10 мкг АДВ /кг живой массы, количество розеткообразующих Т-лимфоцитов достоверно увеличилось на 19,41% (P<0,01) и В-лимфоцитов – на 50,89% (P<0,001), моноцитов – в 2 раза (P<0,001) и макрофагов – в 1,4 раза (P<0,001), тогда как в первой опытной группе достоверных изменений не отмечено (таблица 2, рисунки 1–2).

Таблица 2 – Динамика иммунокомпетентных Т- и В-лимфоцитов при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, %

	Опытная группа 1	Опытная группа 2	Контроль
розеткообразущие Т-лимфоциты			
до применения препарата	44,85±2,15	41,70±2,66	44,31±3,41
на 7–й день	46,12±3,22	52,14±2,21	48,75±2,55
на 14–й день	50,09±2,67	55,86±1,88**	46,78±2,08
на 30–й день	49,33±3,41	54,21±3,15	47,12±4,46
розеткообразущие В-лимфоциты			
до применения препарата	27,32±3,65	25,09±2,40	28,33±2,84
на 7–й день	29,15±2,14	32,98±2,33	26,14±2,66
на 14–й день	31,68±3,22	36,35±3,08*	24,09±4,05
на 30–й день	28,64±2,15	34,18±2,14*	24,76±3,12

Примечание – * P<0,05; ** P<0,01

Рисунок 1 – Изменение уровня моноцитов после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида при ассоциативных паразитозах телят, %

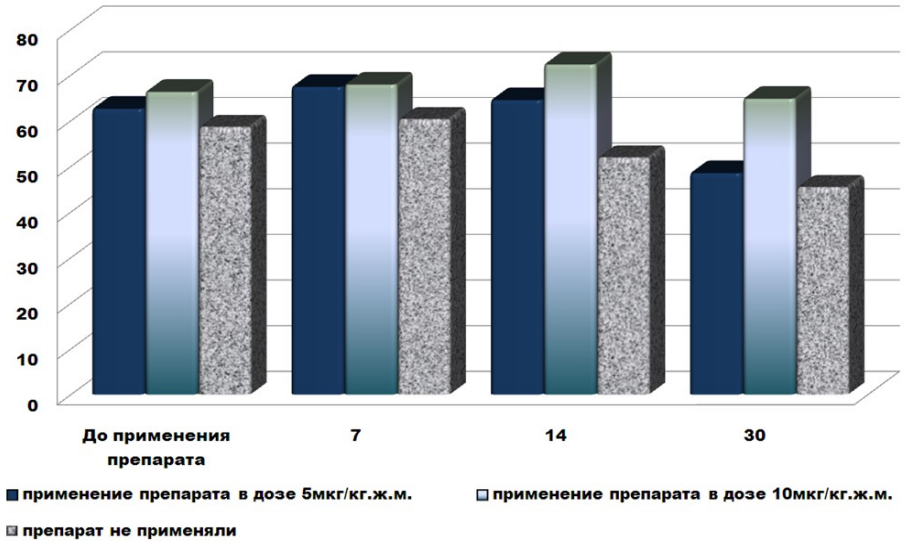

Рисунок 2 – Изменение уровня макрофагов после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида при ассоциативных паразитозах телят, %

Установлено, что после применения иммуностимулятора происходит снижение аллергизации организма животного – нормализуется уровень лейкоцитов и уменьшается количество циркулирующих иммунных комплексов (таблицы 3–5).

Таблица 3 – Динамика лейкоцитов при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, %

Дни исследования	Опытная группа 1	Опытная группа 2	Контроль
лейкоциты, 10^9/л			
до применения препарата	12,64±4,23	14,81±3,52	12,34±6,31
на 7-й день	12,67±2,31	13,66±1,54	13,17±1,28
на 14-й день	12,08±1,58	10,43±1,32*	15,53±1,55
на 30-й день	11,45±2,05	10,51±0,44*	14,86±2,37

Примечание –* P<0,05

Физиологический уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови способствует реализации многих иммунологических процессов в организме, начиная от активации системы комплемента до изменения функциональной активности клеток крови, *Т*- и *В*- клеточных ответов. Для многих болезней образование иммунных комплексов представляет собой естественную часть иммунного ответа. С их помощью происходит освобождение от возбудителя, целього или разрушенного, иначе говоря «клиренс организма». Увеличение уровня иммунных комплексов в крови зараженных ассоциативными паразитами телят происходит за счет накопления «малых» иммунных комплексов от 1,25 ед.оп.пл. и более, образующихся при недостатке иммуноглобулинов. Эти комплексы способны инактивировать эффекторные клетки через Fc- рецепторы и стимулировать выработку иммуносупрессивного фактора.

Таблица 4 – Изменение количественного содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, ед.опт. пл./л

Период исследований	Группы телят		
	опытная группа 1	опытная группа 2	контроль
до применения препарата	25,71±3,62	22,31±4,11	21,75±5,35
на 7-й день	17,85±5,73	16,33±3,21	26,40±4,56
на 14-й день	15,71±2,61	15,24±2,04*	22,60±2,11
на 30-й день	22,0±2,82	15,31±2,06**	26,0±2,23

Примечание – * P<0,05; ** P<0,01

Таблица 5 – Изменение качественного состава циркулирующих иммунных комплексов при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, ед.опт. пл./л

Период исследований	Группы телят		
	опытная группа 1	опытная группа 2	контроль
до применения препарата	1,25±0,08	1,43±0,06	1,36±0,09
на 7-й день	1,09±0,03	1,21±0,02	1,45±0,07
на 14-й день	1,07±0,03**	1,08±0,04**	1,39±0,09
на 30-й день	1,23±0,08	1,06±0,03**	1,54±0,20

Примечание – ** P<0,01

После применения нового препарата «Иммуновет» установлено, что в крови опытных животных преобладают средние иммунные комплексы 1,09–1,06 ед.оп.пл, которые быстро элиминируются организмом, причем данные процессы наиболее выражены во второй опытной группе телят, где применяли препарат в дозе 10 мкг/кг.ж.м.

При изучении динамики белка и белковых фракций на фоне применения иммуностимулирующего препарата было также выявлено их достоверное по сравнению с инвазированным контролем увеличение. Так, в течение первой недели после применения препарата количество общего белка увеличилось на 27,72% (P<0,05) в первой опытной группе и на 31,53% (P<0,01) во второй опытной группе телят (рисунок 3).

Установлено повышение содержания иммуноглобулинов на 21,23% (P<0,05) и белков системы комплемента C_3 на – 36,04% (P<0,01) в первой опытной группе на 14 день исследования, тогда как во второй опытной группе эти показатели составляли 32,65% (P<0,01) и 63,86% (P<0,001) соответственно уже на 7-й день после применения иммуностимулятора,

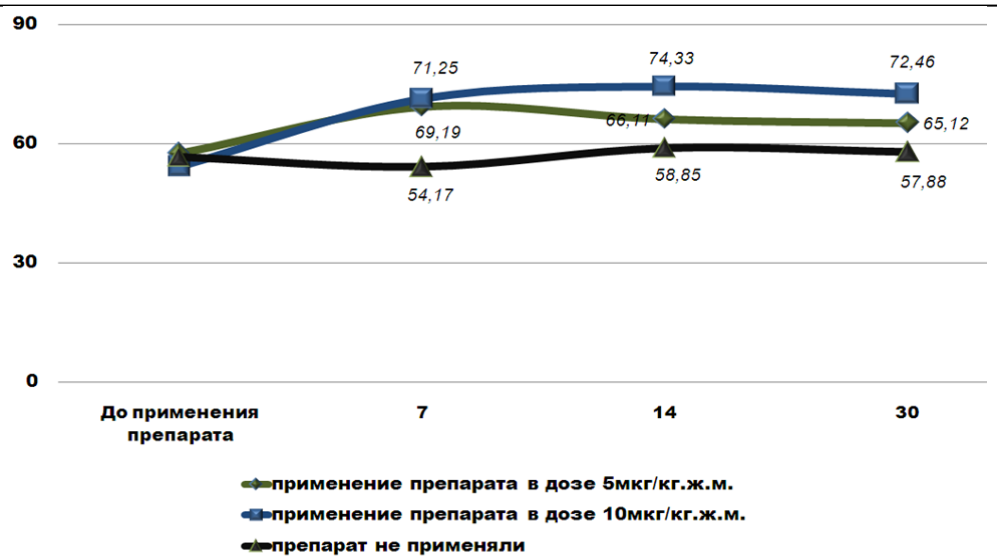

Рисунок 3 – Динамика общего белка при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, г/л

что говорит о более быстром и эффективтивном иммуногенном действии препарата в дозе 10 мкг/кг. Быстрая активизация белков системы комплемента C_3 является важным показателем в повышении гуморального иммунитета, так как продукция иммуноглобулинов обеспечивается кооперативным взаимодействием В-лимфоцитов при непосредственном участии C_3 комплемента (таблица 6).

Применение иммуностимулирующего препарата в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы способствовало эффективному снижению уровня белков воспалительной фазы – а2-глобулинов (церулоплазмин) и а1-глобулинов по сравнению с контролем и группой телят, которым препарат применяли в дозе 5 мкг АДВ/кг живой массы. Снижение уровня белков данной фракции указывает на затухание воспалительных процессов и улучшение состояния животных.

Исходя из результатов биохимических исследований, иммуностимулирующий препарат в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы оказал более выраженное воздействие на обменные процессы. Так, через 14 дней после введения препарата соотношение кальций/фосфор составляло в контрольной группе животных 1,10, что свидетельствует о нарушении минерального обмена. Данный показатель в первой и второй опытных группах составил 1,23 и 1,44 соответственно. В дальнейшем во второй группе, где применяли иммуностимулирующий препарат в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы, содержание кальция и фосфора на 30-й день исследования находилось в пределах физиологической нормы, что указывает на нормализацию обменных процессов и превосходит в эффективности применение препарата в дозе 5мкг/кг (таблица 7).

Понижение активности печеночных аминотрансфераз, а именно аланинаминотрансферазы, наиболее выражено во второй опытной группе, где применяли препарат в дозе 10 мкг/кг.ж.м., и говорит о нормализации обменных процессов в печени и устранении дефицита белка (рисунок 4).

Таким образом, препарат «Иммуноновет» на основе бактериального липополисахарида в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы 1 раз в день 3 дня подряд позволил активизировать клеточные и гуморальные звенья иммунитета, нормализовать обменные процессы, что благоприятно отразилось на иммунном статусе и клиническом состоянии опытных животных.

Таблица 6 – Динамика показателей гуморального иммунитета телят при ассоциативных паразитозах после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, %

Дни исследований	Группы животных		
	опытная группа 1	опытная группа 2	контроль
g – глобулины (иммуноглобулины)			
до применения	12,35±0,75	12,42±0,23	12,17±0,27
на 7-й день	13,86±1,52	16,09±1,15*	12,13±1,21
на 14-й день	15,07±1,97*	17,26±0,82**	12,43±1,54
на 30-й день	13,20±1,24	16,22±0,43**	11,67±1,32
b– глобулины (C_3 - комплимент)			
до применения	8,76±2,43	7,88±0,36	8,34±1,58
на 7-й день	9,44±1,52	10,34±1,06**	6,31±0,33
на 14-й день	11,40±0,65**	12,88±0,55***	8,38±0,96
на 30-й день	10,74±0,71*	12,84±0,64***	6,36±1,54
a2 – глобулины (церулоплазмин)			
до применения	7,90±2,64	9,22±1,35	9,67±2,17
на 7-й день	8,29±1,40	8,05±1,13*	10,5±0,25
на 14-й день	8,64±0,81	7,28±0,34***	9,37±0,40
на 30-й день	9,21±1,55	6,15±0,22***	10,79±2,36
a1– глобулины (антитрипсин)			
до применения	7,50±1,54	8,86±0,55	8,44±2,38
на 7-й день	6,24±0,25*	6,64±0,82**	9,0±0,29
на 14-й день	7,45±0,61	6,55±0,41***	8,46±0,22
на 30-й день	9,22±0,62	5,25±0,34***	11,51±1,85
альбумин			
до применения	44,49±1,74	46,12±1,88	49,95±3,60
на 7-й день	47,29±1,85	51,22±1,31*	46,92±1,51
на 14-й день	49,02±1,10	53,01±1,33**	46,35±1,33
на 30-й день	48,93±3,46	53,59±1,36*	45,28±2,67

Примечание – * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

Таблица 7 – Динамика биохимических показателей крови при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида

Период исследований	Группы телят		
	опытная группа 1	опытная группа 2	контроль
кальций, мМоль/л			
до применения препарата	1,82±0,26	1,74±0,11	1,78±0,06
на 7-й день	1,99±0,13	1,84±0,08	1,74±0,18
на 14-й день	1,95±0,15	2,04±0,13*	1,80±0,21
на 30-й день	1,91±0,09	1,98±0,05	1,72±0,10
фосфор, мМоль/л			
до применения препарата	1,74±0,04	1,92±0,02	1,63±0,07
на 7-й день	1,71±0,05	1,66±0,07	1,71±0,06
на 14-й день	1,58±0,05	1,42±0,06*	1,68±0,03
на 30-й день	1,67±0,08	1,37±0,04**	1,81±0,04

Примечание –* P<0,05; ** P<0,01

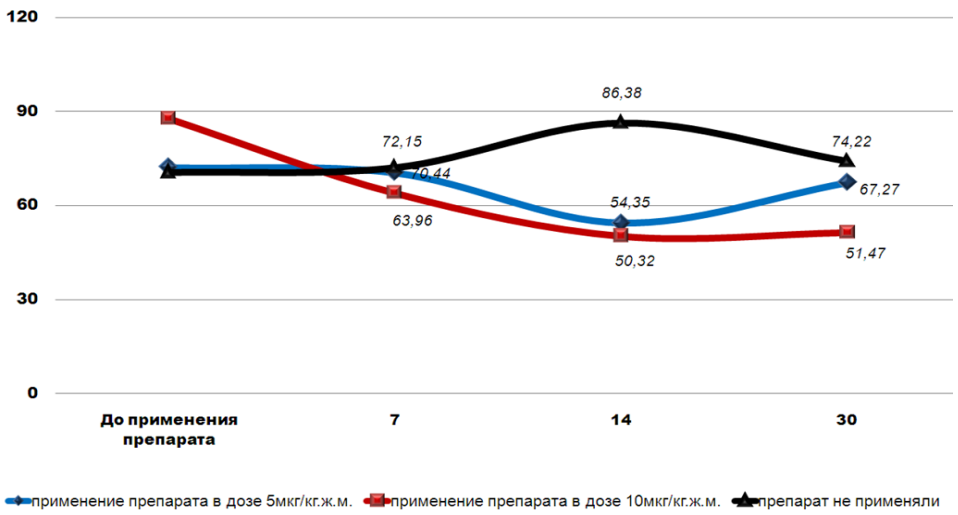

Рисунок 4 – Динамика аланинаминотрансферазы при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида

ВЫВОДЫ

Наиболее эффективной иммуностимулирующей дозой нового препарата «Иммуновет» на основе бактериального липополисахарида является применение его внутримышечно в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы 1 раз в день 3 дня подряд.

Применение нового препарата «Иммуновет» при ассоциативных паразитарных болезнях телят обеспечило эффективное воздействие на:

а) **клеточный иммунитет** путем увеличения количества розеткообразующих Т-лимфоцитов на 19,41% и В-лимфоцитов на 50,89%, повышения количества моноцитов и макрофагов, а также снижения лейкоцитарной реакции;

б) **гуморальный иммунитет** путем повышения содержания иммуноглобулинов на 32,65% и белков системы комплемента C_3 на 63,86%, уменьшения количества циркулирующих иммунных комплексов;

в) **биохимические показатели** путем устранения гипопротеинемии в крови телят и быстрой нормализации уровня биогенных макроэлементов (кальций и фосфор).

ЛИТЕРАТУРА

1 Паразитарные зоонозы (монография) / М.В. Якубовский [и др.]; под. ред. М.В. Якубовского. – Минск: Наша Идея, 2012. – 384 с.

2 Щемелева, Н.Ю. Применение иммуностимуляторов в ветеринарии / Н.Ю. Щемелева, М.В. Якубовский // Ветеринарное дело – 2012. – № 2 – С. 23 – 26.

3 Щемелева, Н.Ю. Экологически безопасные препараты для лечения и профилактики паразитарных болезней / Н.Ю. Щемелева // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства: материалы науч. конф., Витебск, 27 – 28 мая 2010 г. / ВГАВМ. Витебск, 2010.

4 Якубовский, М.В. Иммунобиохимические изменения при паразитарных болезнях телят и способы их коррекции современными препаратами / М.В. Якубовский, Н.Ю. Щемелева, С.И. Лавор, И.И. Кузьминский, О.П. Пепеляева // Сборник научных трудов «Сельское хозяйство – проблемы и перспективы». Вып.12. – Гродно: ГГАУ, 2013. – С. 270 – 276.

5 Якубовский, М.В. Мониторинг эпизоотической ситуации по стронгилятозам желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота/ М.В. Якубовский, С.И. Лавор, Н.Ю. Щемелева, И.И. Кузьминский // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. –2010. – № 2. – С. 7–12.