

УДК 636.1:612.017.11/.12

ДИНАМИКА БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛОШАДЕЙ ПРИ ДЕГЕЛЬМИНТИЗАЦИИ ПРЕПАРАТОМ ИЗ ГРУППЫ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИХ ЛАКТОНОВ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИКА

Муллагалиева О.А.- аспирант, Закрепина Е.Н.- кандидат ветеринарных наук, доцент, Воеводина Ю.А.- кандидат ветеринарных наук, доцент. ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина»

Ключевые слова: лошади, дегельминтизация, макроциклические лактоны, неспецифическая резистентность организма, протеинограмма, пробиотики. **Key words:** horses, deworming, macrocyclic lactones, nonspecific body resistance, proteinogram, probiotics.



РЕФЕРАТ

Одним из перспективных направлений в терапии животных при гельминтозах является разработка комплексных методов лечения, представляющих собой, применение двух или более фармакологических групп препаратов. В последнее время в ветеринарии стали уделять внимание применению иммунокорректоров, в том числе и пробиотиков. Целью нашей работы явилось изучение динамики протеинограммы сыворотки крови - одного из показателей, характеризующего неспецифическую резистентность организма лошади, при дегельминтизации препаратом из группы макроциклических лактонов на фоне применения нового отечественного пробиотика «Bioxumin horse».

Эксперимент проводили на лошадях русской рысистой породы разных возрастных групп. Экспериментальная работа проводилась в СПК «ПКЗ» «Вологодский», КСК «Антарес» Вологодского района и на кафедре микробиологии и эпизоотологии Вологодской ГМХА с сентября 2018 по декабрь 2019 года. Для дегельминтизации использовали препарат «Универм». Пробиотик «Bioxumin horse» задавали за 3 дня до дегельминтизации и в течение месяца после неё внутрь с кормом. Оценка инвазированности параскаридами и стронгилятами проведена на основании результатов гельминтоокопических исследований с использованием флотационного метода Фюллеборна. Белковые фракции в сыворотке крови определяли нефелометрическим методом, согласно ГОСТ-4198-75.

В соответствии с инструкциями, вакцинация лошадей должна проводиться спустя 10-14 дней после дегельминтизации. По результатам наших исследований на эти дни приходится максимальное снижение количества иммуноглобулинов, что может указывать на угнетение иммунобиологической реактивности. Возможны нарушения работы иммунной системы организма, проблемы при выработке специфического иммунитета. Низкий титр антител не обеспечит надежной защиты организма лошадей от возбудителей инфекционных заболеваний.

ВВЕДЕНИЕ

На данный момент, в литературе представлен достаточно обширный материал по исследованиям о влиянии различных антигельминтиков на иммунитет и организм животных в целом[1,5]. Это действие может проявляться как в связи с фармакологическим действием препарата на патологический процесс, так и с побочным влиянием на различные функции клеток, тканей и органов[6].

Одним из перспективных направлений в терапии животных при гельминтозах является разработка комплексных методов лечения, представляющих собой, применение двух или более фармакологических групп препаратов. В последнее время в ветеринарии стали уделять внимание применению иммунокорректоров, в том числе и пробиотикам[2,5,7,8].

Целью нашей работы явилось изучение динамики протеинограммы сыворотки крови - одного из показателей, характеризующего неспецифическую резистентность организма лошади, при дегельминтизации препаратом из группы макроциклических лактонов на фоне применения нового отечественного пробиотика «Bioxumin horse».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа проводилась в СПК «ПКЗ» «Вологодский», КСК «Ангарес» Вологодского района и на кафедре микробиологии и эпизоотологии Вологодской ГМХА с сентября 2018 по декабрь 2019 года. Объект исследования - лошади русской рысистой породы разных возрастных групп. Оценка инвазированности параскаридами и стронгилятами проведена на основании результатов гельминтовооскопических исследований с использованием флотационного метода Фюллеборна.

В ходе эксперимента животные были разделены на 4 группы по 13 голов в каждой: контрольная группа - клинически здоровые животные; фоновая группа - спонтанно инвазированные не дегельминтизированные; первая подопытная группа - инвазированные дегельминтизированные; вторая подопытная группа - ин-

вазированные, дегельминтизированные на фоне применения пробиотического препарата «Bioxumin horse».

Для дегельминтизации использовали препарат «Универм», содержащий в качестве действующего вещества Аверсектин С в концентрации 2 мг в 1 гр, относящийся к четвертому классу опасности. Согласно инструкции препарат задавали внутрь с кормом в дозе 2,5 гр на 50 кг массы тела лошади.

Для фармакостимуляции за 3 дня до дегельминтизации и в течении месяца после ее с кормом задавали пробиотический препарат «Bioxumin horse» в дозе 20 гр на голову. В состав пробиотика входят бактерии рода *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*.

Кровь исследовали четырехкратно: до дегельминтизации и после - на седьмые, 15-е и 45-е сутки. Кровь отбирали из яремной вены. Для получения сыворотки использовали вакуумные пробирки с активатором свёртывания (SiO₂). Белковые фракции в сыворотке крови определяли нефелометрическим методом, согласно ГОСТ-4198-75[3,4].

Полученные результаты отражены в форме средней величины и стандартной ошибки средней ($M \pm m$). Оценка достоверности различий между показателями в пределах одной группы производилась с использованием критерия Вилкоксона, для независимых выборок с применением U-критерия Манна-Уитни. Результаты исследования со значением вероятности допущения альфа-ошибки, равные или менее 5% ($p < 0,05$), расценивались как статистически значимые.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общий белок сыворотки состоит из смеси белков с разной структурой и функциями. Обычно выделяют стандартные фракции: 1 - альбумины, альфа-, бета- и гамма-глобулины. При многих заболеваниях встречается нарушение соотношения фракций белков плазмы (диспротеинемия). Диспротеинемии наблюдаются чаще, чем изменение общего количества белка и при наблюдении в динамике могут отражать физиологиче-

Таблица

Динамика содержания белковых фракций в сыворотке крови лошадей

Группа	До	7 дней	15 дней	45 дней
Альбумины				
Норма	38-48%			
Контрольная	38,9±3,8	41,0±3,6	49,7±1,9*	38,3±3
Фоновая	34,8±2,6	35,0±3,0	48,0±3,5*	40,2±3,7*
Подопытная 1	39,9±4,1	42,2±2,3	51,5±1,4*	45,7±3,3**
Подопытная 2	35,8±5,8	46,2±1,8*^	45,8±5,1	47,2±1,7**
Альфа-глобулины				
Норма	15-31%			
Контрольная	17,6±3,0	17,8±1,7	13,9±1,4	17,1±1,7
Фоновая	25,8±3,8	20,1±1,6	17,4±1,5*	21,7±3,9
Подопытная 1	28,3±2,9**	23,7±1,2**	18±1,1*	20,8±2,8*
Подопытная 2	34,2±4,6**	21,5±1,5*	21,5±2,5***	18±1,9*
Бета-глобулины				
Норма	15-20%			
Контрольная	19,4±3,4	21,4±3	21,6±1,7	24,2±1,4
Фоновая	17,2±2,8	25±3,3*	20,3±2,5	20,3±1,5
Подопытная 1	17,6±3,5	18,9±1,4	17,3±1,7	21,2±2,1
Подопытная 2	16,6±3,4	16,7±1,4	18,1±1,3	21,1±1,7*
Гамма-глобулины				
Норма	19-25%			
Контрольная	24,2±3,8	19,9±1,9	14,8±1,2*	20,4±1,4
Фоновая	22,2±2,8	19,9±1,4	19,1±2,5*	17,8±1,6*
Подопытная 1	14,1±1,7^	15,1±1,3^	13,1±1	12,2±0,96
Подопытная 2	13,5±1,8^	15,7±0,7^	14,5±1,1	13,9±0,7^

Примечание * -достоверные различия до и после обработки в пределах одной группы $p < 0,05$

^ -достоверные различия в сравнении фоновой группы и опытной $p < 0,05$

** достоверные различия в сравнении контрольной группы и опытной $p < 0,05$

ские и патологические изменения состояния организма, характеризовать эффективность проводимых лечебных мероприятий.

Изменения содержания белковых фракций в исследуемых группах лошадей в течение эксперимента отражены в таблице.

Альбумин синтезируется в гепатоцитах и обеспечивает приблизительно 75-80% онкотического давления плазмы. Низкий уровень альбумина наблюдается при заболеваниях печени, поджелудочной железы, энтероколитах, которые могут быть вызваны повреждением стенки кишечника гельминтами. Повышенный уровень альбуминов может говорить об обезвоживании и почечной недостаточности.

Анализируя полученные данные можно отметить, что уровень альбуминов до дегельминтизации в фоновой и второй подопытной группах был незначительно ниже референтных значений (на 8,5% и 5,8%, соответственно), а в контрольной и первой подопытной находится на нижней границе референтных значений. Разница между показателями групп незначительна и статистически не достоверна ($p > 0,05$).

На седьмой день после дегельминтизации в контрольной и двух подопытных группах, установлено повышение уровня альбуминов. Во второй подопытной группе повышение составило 29% ($35,8 \pm 5,8\%$ против $46,2 \pm 1,8\%$), разность является значимой и статистически достоверной ($p < 0,05$). В контрольной и первой подопытной группах содержание альбуминов увеличилось на 5,2% и 6% соответственно. Разница между указанными группами незначительна и статистически не достоверна. В фоновой группе уровень альбуминов сохранялся на низком уровне. Разница между фоновой и второй подопытной группой составила 32% и была статистически достоверна ($p < 0,05$).

У лошадей получавших пробиотический препарат, при последующих исследованиях, уровень альбуминов колебался незначительно и сохранялся в пределах референтных значений.

В трех остальных группах на 15-й день после начала эксперимента зафиксирова-

но увеличение количества альбуминов. Максимальный подъем, превышающий референтные значения на 7%, отмечен в первой подопытной группе (с $39,9 \pm 4,1\%$ до $51,5 \pm 1,4\%$). В фоновой и контрольной группах прирост количества альбуминов составил 37% и 27,7%, по группам соответственно.

В первой подопытной, фоновой и контрольной группах отмечена стабилизация показателя в пределах референтных значений на 45 день от начала эксперимента. Статистически значимые отличия в содержании альбуминов в сыворотке крови животных установлены между контрольной группой ($38,3 \pm 3$), первой ($45,7 \pm 3,3$) и второй подопытными ($47,2 \pm 1,7$) группами, критерий достоверности $p < 0,05$.

В ходе эксперимента также проводилось исследование глобулиновой фракции белка. Известно, что глобулины составляют почти половину белков крови. Они синтезируются в печени, лимфоидной ткани. Фракция альфа-глобулина осуществляет транспорт различных веществ, участвует в системе комплемента, связывает свободный гемоглобин. Фракция бета-глобулинов входит в состав системы комплемента, участвует в свертывании крови, транспортирует различные вещества. Фракция гамма-глобулинов состоит из иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM, IgE), функционально представляющих собой антитела.

Из данных представленных в таблице видно, что в начале эксперимента, в группах инвазированных животных, содержание альфа-глобулинов было значительно выше, по сравнению со здоровыми лошадьми. Достоверно значимые отличия получены между контрольной и подопытными группами ($p < 0,05$). Во второй подопытной группе их содержание превышало нормативные значения на 10,3%. Полученный результат может указывать на воспалительный процесс возможно вызванный повреждением тканей гельминтами.

В первой подопытной и фоновой группах снижение уровня альфа-глобулинов продолжалось до 15-ого дня опыта. Раз-

личия показателей в пределах групп статистически достоверны ($p < 0,05$).

Во второй подопытной группе уровень альфа-глобулинов стабилизировался с 7-ого дня эксперимента и находился в пределах физиологической нормы. На 15-й день эксперимента установлено достоверно значимое различие с контрольной группой, в которой уровень альфа-глобулинов опустился ниже референтных значений. На 45-й день после дегельминтизации содержание альфа-глобулинов снизилось на 53%, относительно первоначального уровня и приблизилось к показателю здоровых лошадей ($18 \pm 1,9\%$ и $17,1 \pm 1,7\%$). Выявленные различия в пределах группы статистически достоверны ($p < 0,05$).

В начале исследования уровень бета-глобулинов (таблица) находился в пределах референтных значений во всех группах, у здоровых животных этот показатель был выше, чем в остальных группах, но статистически значимой разности не установлено.

После дегельминтизации повышение уровня бета-глобулинов в первой и второй опытных группах продолжилось до 45-ого дня опыта. Выявлено достоверное увеличение количества бета-глобулинов в группе лошадей, получавших пробиотик, на 27% ($21,1 \pm 1,7\%$ против $16,6 \pm 3,4\%$).

Максимальный подъем уровня бета-глобулинов, превышающий референтные значения на 25% зафиксирован в фоновой группе на 7-й день исследования (с $17,2 \pm 2,8\%$ до $25 \pm 3,3\%$). Различия статистически достоверны ($P < 0,05$).

На седьмой день эксперимента у животных контрольной группы содержание бета-глобулинов превышало референтные значения на 21%. Повышение уровня бета-глобулинов, может указывать на усиление аллергического и токсического воздействия на организм лошади стронгилятозно-параскариозной инвазии, разрушении личинок гельминтов. В опытных группах показатель соответствовал референтным значениям. Известно, что действие макроциклических лактонов основано на усилении освобождения и

связывания гамма-аминомасляной кислоты в нервных синапсах гельминтов, что приводит к параличу паразита и быстрому выведению его из организма. Это предупреждает дополнительную нагрузку на печень. Важно отметить, что уровень альфа-глобулинов после дегельминтизации в подопытных группах снижается, а уровень бета-глобулинов увеличивается в пределах референтных значений.

Результаты проведенных исследований показали, что у животных подопытных групп уровень гамма-глобулинов ниже референтных значений: в первой подопытной на 26%, во второй на 29%. Установлена достоверно значимая разность относительно контрольной и фоновой групп ($P < 0,05$).

На 15-й день эксперимента содержание гамма-глобулинов снизилось во всех группах. Максимальное падение отмечено в контрольной группе на 39%, разница статистически достоверна. Во всех группах, кроме фоновой, показатели упали ниже референтных значений. На 45-й день снижение содержания гамма-глобулинов продолжилось в фоновой и подопытных группах, а у животных контрольной группы достигло референтных значений, но было ниже первоначальных значений ($20,4 \pm 1,4\%$).

Таким образом, можно отметить, что у дегельминтизированных животных, показатели не восстановились до референтных значений к 45-му дню исследования. У лошадей первой подопытной группы уровень гамма-глобулинов к концу исследования равен $12,2 \pm 0,96\%$, что ниже референтных значений на 36%, у второй подопытной - $13,9 \pm 0,7$ на 27%.

ВЫВОДЫ

В результате исследований установлено, что экстенсивность препарата «Универм» при параскариозно - стронгилятозной инвазии составила 100%.

Высокая инвазивность лошадей кишечными гельминтами приводит к нарушению протеинсинтезирующей функции печени, что выражается снижением уровня концентрации гамма-глобулинов, повышением альфа-глобулинов.

У животных, получавших пробиотический препарат «Bioxymin horse» отмечена стабилизация уровня альбуминов, альфа-глобулинов в пределах референтных значений на седьмой день после дегельминтизации, что указывает на более быстрое восстановление протеинсинтезирующей функции печени.

На наш взгляд, важным является, длительное снижение выработки гамма-глобулинов. В соответствии с инструкциями, вакцинация лошадей должна проводиться спустя 10-14 дней после дегельминтизации. Согласно нашим результатам, на эти дни приходится максимальное снижение количества иммуноглобулинов, что может указывать на угнетение иммунологической реактивности и выработку специфического иммунитета. Низкий титр антител не сможет обеспечить надежную защиту организма лошадей от возбудителей инфекционных заболеваний.

Dynamics of protein fractions of horse blood serum when dehelminthizing a drug from a group of macrocyclic lactones on the background of application of probiotics. Mullagalieva O.A. - graduate student, Zakrepina E.N. - candidate of veterinary sciences, associate professor, Voevodina Yu.A. - candidate of veterinary sciences, associate professor. FSBEI of HE "Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin "

ABSTRACT

The aim of our work is to study the dynamics in the proteinogram of serum of horses during deworming with a drug from the group macrocyclic lactones with the use of the domestic probiotic "Bioxymin horse".

The experiment was carried out on horses of the Russian trotter breed of different age groups. For deworming, the Univerm drug was used. The probiotic "Bioxymin horse" was asked 3 days before deworming and within a month after it inside with food. Protein fractions in blood serum were determined by the nephelometric method, according to GOST-4198-75.

In accordance with the instructions, vaccination of horses should be carried out 10-14 days after deworming. According to the results of our research, these days there is a maximum decrease in the number of immunoglobulins, which may indicate inhibition

of immunobiological reactivity. Possible disruption of the immune system of the body, problems in the development of specific immunity. A low titer of antibodies will not provide reliable protection of the horse's organism from infectious pathogens.

ЛИТЕРАТУРА

1. Апалькин В.А. Макроциклические лактоны при паразитозах крупного рогатого скота // Проблема адаптации сельскохозяйственных животных в Сибири. - Новосибирск, 1995. - С. 241-243
2. Данилевская Н.В. Опыт коррекции дерматологических нарушений и обмена веществ у жеребых племенных кобыл в зимне-весенний период.// Данилевская Н.В., Ливанова М. А.; Ливанова Т.К.// Материалы 5 междунар. науч.-практ. конф. по болезням лошадей.- М., 2004.- С.129-134.
3. Иммунологические методы / под ред. Г. Фримеля, пер. с нем. А.П. Тарасова. - М.: Медицина, 1987. - 472 с.
4. Методические рекомендации по определению неспецифической резистентности организма при гельминтозах. - М., 1984. - С. 7-8.
5. Муллагалиева О.А., Закрепина Е.Н. Корректировка некоторых показателей гуморального иммунитета лошади пробиотическим препаратом на фоне применения антгельминтика из группы макроциклических лактонов // О.А.Муллагалиева., Е.Н.Закрепина.// Ветеринария сегодня. -2019.- № 2 (29).- С. 56-59.
6. Курочкина Г.К., Мусаев З.Г. Влияние комбинированного противопаразитарного препарата Аверсект плюс на организм собак / Г.К. Курочкина, З.Г. Мусаев // Российский паразитологический журнал. -2013. №3.-С.78-82.
7. Herich R., Levcut M. Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. Vet. Med. - Czech, 2002. - № 47 (6). - P. 169-180.
8. Perdigon G., Alvarez S., Rachid M., Aguero G., Gobbato N. Immune system simulation by probiotics - J. Dairy science. - 1995. - № 78 (7). - P. 15971606.