# УДК 636.1:612.017.11/.12

# ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЛОВ ЛОШАДЕЙ ПРИ ДЕГЕЛЬМИНТИЗАЦИИ ПРЕПАРАТОМ ИЗ ГРУППЫ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИХ ЛАКТОНОВ НА ФОНЕ ПРОБИОТИКА

Муллагалиева О.А.- асп., Закрепина Е.Н.- к. вет. н., доц., Воеводина Ю.А.- к.вет. н., доц. ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина»

*Ключевые слова*: лошади, фагоцит арная акт ивност ь нейт рофилов, макроциклические лактоны, пробиотик. *Key words*: horses, phagocytic activity of neutrophils, macrocyclic lactones, probiotic.



### РЕФЕРАТ

Целью работы явилось изучение динамики, показателей фагоцитарной активности нейтрофилов периферической

крови лошадей при дегельминтизации препаратом из группы макроциклических лактонов на фоне применения нового отечественного пробиотика «Bioxymin horse». У всех животных участву-

ющих в опыте, установлено снижение естественной резистентности, характеризующееся уменьшением способности нейтрофилов крови к поглощению чужеродного материала. В группе лошадей, которые служили индикатором инвазии, отмечены колебания показателей фагоцитарного индекса и фагоцитарной активности, ФИ на 7 день эксперимента увеличился с 5,9 м.т. до 8,4 м.т., затем медленный спад и к 45 дню ФИ равен 6,8 м.т., в то время как ФА к седьмому дню эксперимента снижается с 44,0% до 40,8%, к 15 дню резкий подъем значений до 51,0%, к 45 дню рост продолжился до 52,0%. Поглотительная способность изменялась циклично. Мы связываем такую динамику с изменением интенсивности инвазии на протяжении опыта и возникающей аллергической (сенсебелизирующей) реакцией организма лошади. У лошадей опытных групп на 7 день опыта отмечено повышение фагоцитарной активности на 15,4% и 35,8%, соответственно по группам, выявленная разница статистически достоверна (р<0,05). Очевидно, это указывает на активацию клеточного звена защиты под воздействием пробиотического препарата. На основании полученных данных можно сделать вывод, что глистная инвазия и применение ангтельминтика из группы макроциклические лактоны без дополнительных иммуностимуляторов оказывают депрессивное действие на клеточное звено естественного иммунитета. Пробиотический препарат «Bioxymin horse» оказывает положительное действие на клеточный иммунитет лошади.

## ВВЕДЕНИЕ

Современные антгельминтики характеризуются селективной токсичностью для паразитов и низкой токсичностью для хозяина. Тем не менее, регистрируются нежелательные последствия после дегельминтизации. Известно, что продукты

распада гельминтов оказывают чрезвычайно выраженное токсическое воздействие на организм, в частности снижают иммунные реакции [5,6]. Особенно ярко негативные последствия проявляются при высокой интенсивности инвазии массовая гибель гельминтов приводит к

эндотоксикозам и нарушению микробиоты желудочно-кишечного тракта [6,10,11].

На фоне проведения антигельминтной терапии многими авторами подчеркивается важность повышения неспецифической (естественной) резистентности организма. Одним из методов корректировки защитных реакций организма является применение пробиотических препаратов [1,4,9].

Целью нашей работы явилось изучение в динамике показателей фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови лошадей при дегельминтизации препаратом из группы макроциклических лактонов на фоне применения нового отечественного пробиотика «Віохутіп horse».

# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа проводилась в СПК «ПКЗ» «Вологодский», КСК «Антарес» Вологодского района и на кафедре эпизоотологии и микробиологии Вологодской ГМХА, с сентября 2018 по декабрь 2019 года. Объект исследования лошади разных возрастов русской рысистой породы. Предметом исследования являлась цельная кровь.

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 опытная группа - инвазированные; вторая опытная группа - инвазированные, дегельминтизированные на фоне применения пробиотического препарата.

Оценка инвазированнности параскаридами и стронгилятами проведена на основании результатов гельминтоовоскопических исследований с использованием флотационного метода Фюллеборна.

Для дегельминтизации использовали препарат «Универм», содержащий в качестве действующего вещества Аверсектин С (относящийся к четвертому классу опасности) в концентрации 2 мг в 1 гр. Препарат задавали согласно инструкции: внутрь с кормом в дозе 2,5 гр на 50 кг массы тела лошади, в смеси с кормом в утреннее кормление ежедневно в течение 2 дней.

Животным второй опытной группы за 3 дня до дегельминтизации и в течение месяца после ее с кормом задавали пробиотический препарат «Віохутіп horse» в дозе 20 гр на голову в сутки. В состав пробиотика входят бактерии родов: Lactobacillus, Bifidobacterium, Bacillus.

Оценку активности клеточного звена защиты (фагоцитарная активность нейтрофилов крови - ФАНК) проводили согласно действующих методик[7,8]. В качестве тестмикроба использовали суточную агаровую культуру Staphylococcus epidermidis (в форме взвеси). Оценивали следующе показатели поглотительной активности нейтрофилов (ФА - фагоцитарная активность, ФИ - фагоцитарный индекс, ФЧ - фагоцитарное число)[2,3].

Кровь исследовали четырехкратно: до дегельминтизации и после - на седьмые, 15-е и 45-е сутки. Кровь брали из яремной вены в вакутейнеры содержащие 3,8% раствор цитрата натрия.

Полученные результаты отражены в форме средней величины и стандартной ошибки средней (М±т). 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% (р<0,05), расценивались как статистически значимые. Для измерения степени и определения направления прямолинейной связи использовали корреляционно-регрессионный анализ.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В основе защитной способности лей-коцитов лежит фагоцитарный процесс, заключающийся в их свойстве - распознавать, поглощать и уничтожать чужеродные клетки. Уровень активности фагоцитоза позволяет оценить резервные возможности нейтрофилов по поглощению и нейтрализации микроорганизмов. О фагоцитарной способности нейтрофилов крови можно судить по данным их фагоцитарной активности, показателям фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса.

Результаты оценки активности клеточного звена естественной резистентности лошадей представлены в таблице 1.

Фагоцитарный индекс характеризует интенсивность фагоцитоза и определяется средним числом фагоцитированных микробных частиц, приходящихся на один нейтрофильный лейкоцит.

Из данных, представленных на диаграмме (рис. 1), видно, что у животных всех анализируемых групп ФИ был изначально ниже нормативного показателя: в контрольной группе на 41%, в фоновой на 43%, а в опытных группах на 15,4% и 13% соответственно.

Таблица 1 Динамика показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови в группах лошадей

Группы	ФИ, м.т.	ФЧ, м.т.	ФА, %
Норма	10,4-13,4	8,65-10,35	69,6-77,0
до дегельминтизации			
Контрольная	6,1±0,6	15,3±1,0	41,1±4,1
Фоновая	5,9±0,3	13,9±1,2	44,0±4,3
Опытная 1	8,8±0,8	17,1±0,4	47,5±4,6
Опытная 2	9,02±0,7^	18,4±0,9^	47,7±3,2
через 7 дней			
Контрольная	7,8±0,7*	14,1±0,7	55,6±4,3*
Фоновая	8,4±1,8	11,7±1,7	40,8±11,8
Опытная 1	7,8±0,9	14,1±1,1	54,8±2,6
Опытная 2	9,0±1,1	14,0±1,3*	64,8±6,0*
	через	з 15 дней	
Контрольная	7,6±1,1	14,9±1,6	50,4±3,6
Фоновая	7,5±0,9	14,9±1,9	51,0±3,3
Опытная 1	7,8±1,3	14,7±2,2	51,0±3,3
Опытная 2	8,3±0,9	13,7±1,1*	57,9±4,3*
через 45 дней			
Контрольная	5,5±0,8	12±1,4*	44,6±2,7
Фоновая	6,8±1,6	12,7±1,2	52,0±7,5
Опытная 1	5,9±0,7*	10,8±0,8	53,0±3,7
Опытная 2	5,8±0,7*	10,7±0,8*	52,1±3,3

Примечание \*-достоверные различия до и после обработки в пределах одной группы p < 0.05 ^- достоверные различия в сравнении контрольной группы и опытной p < 0.05

В контрольной и фоновой группах на 7 день эксперимента отмечено увеличение ФИ на 28 % и 42 %, соответственно; но его значение не достигло нижней границы физиологической нормы. Различия статистически достоверны (р<0,05). Через 1,5 месяца от начала эксперимента в контроле зафиксировано снижение ФИ до минимального значения за весь период наблюдения - 5,5±0,8, что ниже на 10% относительно первоначальных значений. В фоновой группе снижение индекса фагоцитоза на 10,7 % отмечено с 15 дня, выявленная тенденция сохранилась до конца эксперимента - к 45 дню ФИ у животных данной группы был на 35% ниже границы нормы.

В опытных группах фагоцитарный индекс был изначально выше, по сравнению со здоровыми лошадьми: в первой опытной группе на 44%, а во второй на 48%. Разница между опытными группами составила 4% и была незначительна и статистически недостоверна (р>0,05).

В первой опытной группе ФИ снижался в течение всего периода наблюдения: на 7 день на 11%, к 45 дню - на 33%, по сравнению с результатами до дегельминтизации. Различия в пределах группы статистически достоверны (p<0,05).

Во второй опытной группе изменения ФИ идентичны первой опытной группе: наблюдалось постепенное снижение индекса фагоцитоза к 45 дню от начала эксперимента на 35,7% по сравнению с первоначальными данными. Различия в пределах группы статистически достоверны (р<0,05).

В конце эксперимента, между всеми четырьмя группами животных, не выявлено достоверной разности в индексе фагоцитарной активности нейтрофилов.

Таким образом, можно отметить общность в проявлении динамики индекса фагоцитоза нейтрофилов по исследуемым группам.

Фагоцитарное число является дополнительным показателем, характеризующим поглотительную способность нейтрофилов, их активность. Динамика показателя по группам представлена на диаграмме (рис.2).

В начале эксперимента анализируемый показатель во всех группах превышал нормативное значение: у здоровых животных на 48%, в фоновой на 34,2%, разница между группам статистически не достоверна. В опытных группах нормативный показатель превышен на 65% и 77% соответственно, разница между опытными группами недостоверна.

В группе здоровых животных ФЧ снижалось в течение эксперимента и к 45 дню составило 12±1,4 м.т.; что на 21,6% ниже первоначального значения. В фоновой группе отмечены циклические колебания исследуемого показателя: на 7 день эксперимента отмечено снижение ФЧ на 15,8%, на 15 день последовало повышение на 6,7 % относительно первоначального значения, к 45 дню показатель снова снизился до  $12,7\pm1,2$  м.т., что было ниже на 8,6% первоначального значения. К концу эксперимента различия между группами были статистически не достоверны (р>0,05). ФЧ на протяжении всего опыта в фоновой группе было выше физиологической нормы. В начале опыта на 25,5%, на седьмой день - 11,5%, на 15 день -30,5%, к 45 дню выше на 18,5%.

В опытных группах ФЧ снижалось весь период наблюдения – к 45 дню опыта показатель снизился на 37% - в первой и 42% - во второй от первоначального уровня. Таким образом, достигнув границы физиологической нормы. Различия внутри групп значимы и статистически достоверны (р<0,05).

Достоверных различий между фоновой, контрольной и опытными группами в конце эксперимента не выявлено. В опытных группах животных изменение поглотительной активности нейтрофилов аналогично таковой у здоровых животных

Фагоцитарная активность – тест, который позволяет оценить резервные возможностей нейтрофилов и моноцитов к выполнению их основной функции – поглощению и переработке чужеродных агентов (рис.3).

На начало эксперимента фагоцитарная активность нейтрофилов во всех группах

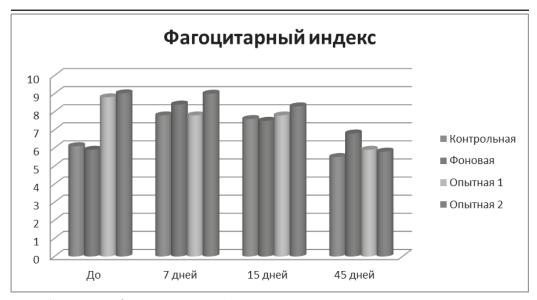


Рис. 1-Динамика фагоцитарного индекса

была ниже нормативных значений: у здоровых животных на 41%, в фоновой группе на 37%, а в опытных группах на 32% и 31% соответственно.

У животных контрольной группы  $\Phi A$  на 7 день повысилась относительно исходной на 26%, а с 15 дня и до конца наблюдения отмечено снижение показателя до первоначального значения  $(44,6\pm2,7\%)$ , что на 36% ниже нормы.

В фоновой группе ФА на седьмой день исследования снизилась на 7,3% от первоначального уровня. С 15 дня и до конца эксперимента активность фагоцитоза увеличивалась до 52±7,5%, что выше первоначального уровня на 18.%.

На начало эксперимента между опытными группами достоверная разность отсутствовала, активность нейтрофилов была одинаковой (47,5±4,6% и 47,7±3,2%). На седьмой день исследования зафиксирован рост фагоцитарной активности в первой опытной группе на 15,4% (до 54,8±2,6%), а во второй группе на 35,8% (до 64,8±6,0%). Во второй опытной группе получены статистически достоверные различия (р<0,05) с первоначальным уровнем.

К 15 дню ФА в опытных группах понизилась в первой на 7% до 51±3,3% и во второй на 10,6% (57,9±4,3%) соответственно. Во второй опытной группе получены различия статистически достоверные (р<0,05). К 45 дню фагоцитарная активность в опытных группах вышла практически на один уровень. В первой опытной группе на 45 день ФА равнялась 53±3,7%, во второй 52,1±3,3%. Таким образом, динамика изменения фагоцитарной активности соответствовала таковой в фоновой группе.

Анализ корреляционных связей в начале эксперимента показал наличие во всех группах прямой связи различной силы (от умеренной до высокой) между фагоцитарным индексом и фагоцитарным числом (p>0,05); прямой связи между фагоцитарным индексом и фагоцитарной активностью (p>0,05); и обратной связи (от заметной до высокой) между фагоцитарным числом и фагоцитарной активностью нейтрофилов (p>0,05).

На протяжении всего эксперимента корреляционная связь между ФИ и ФЧ усиливалась во всех группах. В контрольной группе сначала связь была прямая слабая (р>0,05), , на 15 день опыта про-

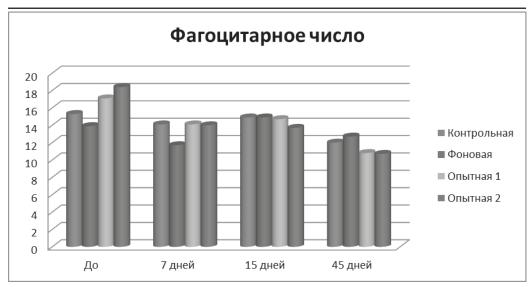


Рис. 2- Динамика фагоцитарного числа

слеживалась прямая высокая связь (p<0,05), к концу опыта прямая весьма высокая (p>0,05), в фоновой группе изменения с прямой слабой связи(p>0,05), к 15 дню до прямой высокой (p<0,05), к 45 дню до прямой весьма высокой (p>0,05), в первой опытной группе в начале прямая высокая связь, в конце опыта прямая весьма высокая (p<0,05), во второй опытной группе в начале прямая связь, на 45 день прямая весьма высокая (p<0,05). Достоверные изменения в контрольной и фоновой группах получены лишь на 15 день исследования.

Корреляционная связь между показателями ФИ и ФА во всех группах имела разную силу. В контрольной группе на протяжении опыта не изменялась и оставалась прямой высокой (р<0,05). В фоновой группе установлены колебания: до дегельминтизации прослеживалась умеренная прямая связь, на 7 день прямая высокая, на 15 прямая слабая, на 45 день прямая весьма высокая, статистически значимых различий не получено (р>0,05). В первой опытной группе корреляционная связь в начале исследования прямая высокая связь, на 15 день изменения до прямой заметной связи и на 45 день возвращение к прямой высокой, различия статистически достоверны (p<0,05). Во второй опытной группе в начале прямая высокая связь, на 7 день прямая заметная, на 15 и 45 дни прямая высокая (p<0,05).

Анализируя связи между показателями ФЧ и ФА, обнаружены явные различия между группами. В контрольной группе установлены плавные изменения: вначале связь обратная заметная, на 7 день обратная слабая, на 15 день прямая слабая, к 45 дню прямая умеренная, статистически значимых различий не получено (p>0,05). В фоновой группе установлены колебания: обратная высокая связь к 7 дню меняется на прямую слабую, на 15 день снова обратная, но слабая связь, на 45 день прямая заметная (р>0,05). В первой опытной группе связь стабильно прямая умеренная между ФЧ и ФА (р>0,05). Во второй опытной группе корреляционная связь изменяется на 7 день с прямой слабой до обратной слабой (р>0,05), на 15 день прямая умеренная(р>0,05), на 45 день прямая высокая(р<0,05).

### *ВЫВОДЫ*

У всех животных участвующих в опыте, установлено снижение естественной резистентности, характеризующееся снижением способности нейтрофилов крови к поглощению чужеродного материала.

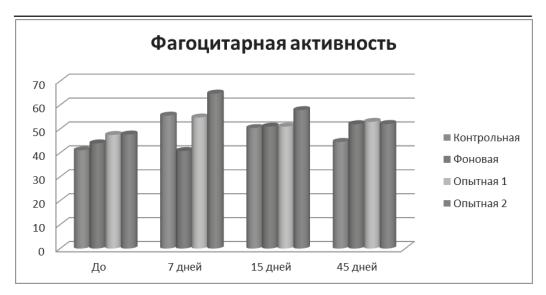


Рис.3- Динамика фагоцитарной активности

Снижение фагоцитарного индекса у здоровых лошадей на 41%, в фоновой группе на 43%, а в опытных группах на 15,4% и 13% соответственно. Фагоцитарной активности у здоровых животных на 41%, в фоновой группе на 37%, а в опытных группах на 32% и 31% соответственно.

В связи с тем, что даже у клинически здоровых лошадей исследуемые показатели отличались от нормативных значений, можно предположить, что на снижение активности нейтрофилов, в данном случае, обусловлено условиями содержания, кормления.

В группе лошадей, которые служили индикатором инвазии, отмечены колебания показателей фагоцитарного индекса и фагоцитарной активности, а поглотительная способность изменялась циклично. И хотя мы не можем говорить о стабильности показателей в других группах, мы предполагаем, что такая динамика у инвазированных лошадей связана с изменением интенсивности инвазии на протяжении опыта и возникающей аллергической (сенсебелизирующей) реакцией организма лошади.

Рассмотрев динамику активности фагоцитоза после применения антгельминтика, видно, что интенсивность фагоцито-

за, поглотительная способность снижается, фагоцитарная активность изменяется циклично. Выявленные изменения сходны с таковыми у недегельминтизированных животных. То есть данный препарат не оказывает резко выраженного негативного воздействия на клеточное звено естественной защиты организма.

У лошадей, получавших пробиотик, так же выявлено снижение интенсивности фагоцитоза, но оно было более плавным, по сравнению, с лошадьми, продегельминтизированными без пробиотического препарата.

У лошадей опытных групп на 7 день опыта отмечено повышение фагоцитарной активности на 15,4% и 35,8%, соответственно по группам, выявленная разница статистически достоверна (р<0,05). Очевидно, это указывает на активацию клеточного звена защиты под воздействием пробиотического препарата.

На основании полученных данных, можно сделать вывод, что глистная инвазия и применение ангтельминтика из группы макроциклические лактоны без дополнительных иммуностимуляторов, оказывают депрессивное воздействие на клеточное звено естественного иммуните-

та. Пробиотический препарат «Віохутіп horse» оказывает положительное действие на клеточный иммунитет лошади. Плюс использования пробиотиков в том, что они активируются непосредственно в кишечнике, где локализуются гельминты. Полезные бактерии восстанавливают кишечную микрофлору и способствуют регенерации клеток кишечника.

Estimation of the activity of horse neutrophyl during dehelminization with a preparation from the group of macrocyclic lactons on the background of a probiotic. Mullagalieva O.A. - postgraduate student, Zakrepina E.N. - candidate of veterinary sciences, associate professor, Voevodina Y.A. - candidate of veterinary sciences, associate professor. FSBEI HE Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin "

#### ABSTRACT

The aim of the work was to study the dynamics, indicators of phagocytic activity of peripheral blood neutrophils of horses during deworming with a drug from the group of macrocyclic lactones against the background of the use of a new domestic probiotic "Bioxymin horse". In all animals participating in the experiment, a decrease in natural resistance was found, characterized by a decrease in the ability of blood neutrophils to absorb foreign material. In the group of horses that served as an indicator of invasion, fluctuations in the parameters of the phagocytic index and phagocytic activity were noted, the PI on the 7th day of the experiment increased from 5.9 bw. to 8.4 m.t., then a slow decline and by the 45th day the PI is equal to 6.8 m.t., while by the seventh day of the experiment, the FA decreases from 44.0% to 40.8%, by the 15th day a sharp rise in values to 51.0%, by the 45th day the growth continued to 52.0%. The absorption capacity changed cyclically. We associate such dynamics with a change in the intensity of invasion over the course of the experiment and the emerging allergic (sensibilizing) reaction of the horse's body. In the horses of the experimental groups, on the 7th day of the experiment, an increase in phagocytic activity was noted by 15.4% and

35.8%, respectively, according to groups, the revealed difference was statistically significant (p <0.05). Obviously, this indicates the activation of the cellular defense link under the influence of the probiotic preparation. Based on the data obtained, it can be concluded that helminthic invasion and the use of anthelmintics from the group of macrocyclic lactones without additional immunostimulants have a depressive effect on the cellular link of natural immunity. The probiotic preparation Bioxymin horse has a positive effect on the horse's cellular immunity.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1.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.
- 2.Иммунологические методы / под ред. Г. Фримеля, пер. с нем. А.П. Тарасова. М.: Медицина, 1987. 472 с.
- 3. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, М. И. Рецкий [и др.] //Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины.Ч. III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных. М.: РАСХН, 2007. С. 216–292.
- 4.Муллагалиева О.А., Закрепина Е.Н. Корректировка некоторых показателей гуморального иммунитета лошади пробиотическим препаратом на фоне применения антгельминтика из группы макрониклических лактонов/
- О.А.Муллагалиева., Е.Н.Закрепина.// Ветеринария сегодня. -2019.- № 2 (29).-С. 56 -59.
- 5.Муромцева О.О. Нематодозы лошадей Кировской области (эпизоотология, иммунологическая реактивность, меры борьбы): автореф. ... канд. вет. наук / О.О. Муромцева. С.-Пб., 2004. 17 с.
- 6.Новиков, П.Д. Принципы оценки иммунного статуса и диагностики иммунодефицитных болезней / П.Д. Новиков, Н.Ю. Коневалова, Н.Д. Титова // Иммуно-

патология, аллергология, инфектология (Immunopathology, allergology, infectology).

gy).
7. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных: метод. рекомендации // Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. IV. Лабораторные методы исследований инфекционной патологии животных / Россельхозакадемия. - Москва, 2008. - С. 100-117.

8.Петров Р.В. // Иммунология. -

М.: Медицина, 1982. - С. 368. 9.Baggot J.D. The absorption, distribution and elimination of anthelmintic, drugs: the role of pharmacokinetic^. / J.D. Baggot, O.A. McKeilar // J. Pharmacol, and Ther.,.-1994. V. 17. - №6. - P.409-419.

10.Barriga O.O. Immunomodulation by nematodes. / O.O. Barriga // A review vet. parasitol., 1984. V.3/4. -P.293-320.

11.Vigra A., Demma J., Librizzi R. Gastrointestinal helmints this in horses and mules // J. Vet. - 1990. - V. 29. - № 3. - P. 530-533.

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятиях при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт -Петербургского университета ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

Тел/факс (812) 365-69-35, Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49, e-mail: 3656935@gmail.com