

УДК 636.1:612.017.11/.12:636.087.8:615.284

DOI 10.29326/2304-196X-2019-2-29-56-59

КОРРЕКТИРОВКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ЛОШАДИ ПРОБИОТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИГЕЛЬМИНТИКА ИЗ ГРУППЫ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИХ ЛАКТОНОВ

О. А. Муллағалиева¹, Е. Н. Закрепина²¹ Аспирант, ФГБОУ ВО «Вологодская ГМХА им. Н. В. Верещагина», г. Вологда-Молочное, Россия, e-mail: mullagalieva.lady-oksana@yandex.ru; ORCID ID 0000-0001-5631-5595² Доцент, кандидат ветеринарных наук, ФГБОУ ВО «Вологодская ГМХА им. Н. В. Верещагина», г. Вологда-Молочное, Россия; ORCID ID 0000-0002-4185-9810

РЕЗЮМЕ

Многочисленными исследованиями установлено, что и сами инвазионные болезни, и применение некоторых антигельминтиков негативно влияют на иммунитет лошади, нарушая нормальную микрофлору кишечника. Антигельминтики из группы макроциклических лактонов зарекомендовали себя как высокоэффективные препараты, однако их влияние на гуморальный иммунитет лошади изучено недостаточно. Также слабо освещенным остается вопрос об иммунокоррекции с использованием пробиотических препаратов. В статье представлены результаты влияния параскариозно-стронгилятозной инвазии и дегельминтизации препаратом из группы макроциклических лактонов на некоторые показатели гуморального иммунитета лошади. Впервые получены данные о действии пробиотика Bioxymin horse на бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови. Работу проводили с декабря 2018 по январь 2019 года. Результаты исследований показали, что глистная инвазия и использование антигельминтного препарата «Универм» оказывают депрессивное действие на некоторые показатели гуморального иммунитета лошади. Это также отражается на экстенсивности антигельминтика. Пробиотик Bioxymin horse оказывает стимулирующее действие на гуморальный иммунитет лошади.

Ключевые слова: лошади, инвазионные болезни, дегельминтизация, макроциклические лактоны, гуморальный иммунитет, пробиотики.

UDC 636.1:612.017.11/.12:636.087.8:615.284

IMPROVING SOME PARAMETERS OF ANTIBODY RESPONSE IN HORSES BY PROBIOTIC AGENTS AGAINST BACKGROUND USE OF MACROCYCLIC LACTONE ANTHELMINTIC

O. A. Mullagalieva¹, Ye. N. Zakrepina²¹ Post-Graduate Student, FSBEI HPE "Vologda SDFA named after N. V. Vereshchagin", Vologda-Molochnoye, Russia, e-mail: mullagalieva.lady-oksana@yandex.ru; ORCID ID 0000-0001-5631-5595² Associate Professor, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FSBEI HPE "Vologda SDFA named after N. V. Vereshchagin", Vologda-Molochnoye, Russia; ORCID ID 0000-0002-4185-9810

SUMMARY

Multiple researches demonstrate that both invasive diseases and use of anthelmintics adversely affect horse immunity harming the gut flora. Macrocytic lactone anthelmintics are proved to be highly effective agents but there is insufficient knowledge of their effect on the horse antibody immunity. The issue of immune system correction by the probiotic agents is also underreported. The paper demonstrates the results of the effect made by parascariodosis and strongylidosis invasion and deworming using the macrocytic lactone drug on some parameters of antibody response in horses. Data on effect of probiotic Bioxymin horse on blood serum bacteriocidal and lysozyme activity were reported for the first time. The research was performed from December 2018 to January 2019. The results demonstrated that helminthic invasion and anthelmintic drug Univerm make depressive effect on some parameters of antibody response in horses. It also has an impact on the extensive efficacy of the anthelmintic agent. Probiotic Bioxymin horse makes a stimulating effect on the antibody response in horses.

Key words: horses, invasive diseases, deworming, macrocytic lactones, antibody response, probiotics.

ВВЕДЕНИЕ

Гельминтозы наносят существенный экономический ущерб коневодству [8]. Гельминты оказывают неблагоприятное влияние на иммунитет лошади, вызывая вторичные иммунодефициты. Кроме того, изменяется количественный и качественный состав нормальной микрофлоры организма хозяина, появляется дисбактериоз, который осложняет течение паразитарного заболевания и нередко обуславливает длительную дисфункцию кишечника. Известно, что инвазионные болезни способны активизировать воздействие условно-патогенных микробов на организм лошади [3, 5].

Применение антигельминтных препаратов негативно влияет на нормальную микрофлору желудочно-кишечного тракта животных, вызывая побочные эффекты, такие как эндотоксикозы [12].

Антигельминтики способны вызывать изменения количественных и функциональных показателей иммунной системы крови [1, 4, 5, 7, 9, 11]. Препараты из группы макроциклических лактонов являются высокоэффективными средствами, но влияние их на иммунитет лошади требует изучения [8, 9].

В современной ветеринарии особое внимание обращено на пробиотические препараты. По некоторым данным, при попадании пробиотиков в кишечник животных происходит выраженная перестройка систем, ответственных за неспецифическую резистентность и активацию Т-клеточного звена иммунитета. Под влиянием пробиотиков возрастает активность сывороточного лизоцима, усиливаются фагоцитоз и бактерицидная активность сыворотки крови [2, 12]. Сейчас на рынке ветеринарных препаратов представлено достаточное количество пробиотиков для лошадей. Однако вопросы об их совместимости с препаратами других групп все еще мало изучены.

В связи с вышеизложенным целью работы явилось изучение возможности коррекции некоторых показателей гуморального иммунитета лошади новым отечественным пробиотиком Bioхитin horse на фоне применения антигельминтика из группы макроциклических лактонов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились с декабря 2018 по январь 2019 г. в СПК «ПКЗ» «Вологодский» и на кафедре микробиологии и эпизоотологии Вологодской ГМХА. Объектами исследования явились лошади русской рысистой породы разных возрастных групп.

На первом этапе работы на основании эпизоотологических данных, клинических признаков, результатов гельминтовопроскопических исследований с использованием флотационного метода Фюллеборна установили диагноз на параскариоз (параскаридоз), стронгилятоз.

Состояние гуморального звена иммунитета оценивали по показателям бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) и лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК). Предмет исследования – сыворотка крови. Кровь у лошадей брали из яремной вены. Для получения сыворотки крови использовали вакуумные пробирки с активатором свертывания (SiO_2).

Исследования проводили согласно «Методическим рекомендациям по оценке естественной резистентности сельскохозяйственных животных» [10].

Бактерицидную активность сыворотки крови изучали с использованием тест-культуры *Escherichia coli*,

лизоцимную активность сыворотки крови – с использованием тест-культуры *Micrococcus lysodeikticus* в форме взвеси с концентрацией микробных клеток 1 млрд м. к./мл.

Кровь исследовали четырехкратно: до дегельминтизации и после – на 7, 15 и 45-е сутки.

Все эксперименты на животных проводили согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2012 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Microsoft Excel-2003. Оценка достоверности различий между показателями производилась с использованием параметрического критерия Стьюдента [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате паразитологических исследований в ноябре 2018 г. у лошадей русской рысистой породы Вологодской области выявлено 2 нематодоза: параскариоз и стронгилятоз. Экстенсивность инвазии параскариозом составила 50%, стронгилятозом – 16%.

Для дегельминтизации использовали препарат «Универм» (действующее вещество аверсектин С – 2 мг в 1 г), относящийся к четвертому классу опасности. Согласно инструкции препарат задавали внутрь с кормом в дозе 2,5 г на 50 кг массы тела лошади.

В процессе исследования установлена 100%-я экстенсивность препарата «Универм» при параскариозно-стронгилятозной инвазии. Пролонгированное действие антигельминтика наблюдалось в течение 30 сут. На 30-е сут после дегельминтизации экстенсивность препарата составила 80%.

В ходе эксперимента животные были разделены на 4 группы: контрольная – клинически здоровые животные (n=9); фоновая – спонтанно инвазированные недегельминтизированные (n=5); опытная 1 – инвазированные дегельминтизированные (n=13); опытная 2 – инвазированные дегельминтизированные на фоне пробиотика (n=13).

Для фармакостимуляции добавляли в корм пробиотический препарат Bioхитin horse в дозе 20 г на голову за 3 сут до дегельминтизации, во время дегельминтизации и после нее в течение месяца. В состав пробиотика входят бактерии рода *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*.

Результаты активности гуморального иммунитета лошадей до и после дегельминтизации представлены в таблицах 1 и 2, на рисунках 1 и 2.

Установлено, что до дегельминтизации БАСК пораженных (опытная группа 1 – $67,4 \pm 6,7\%$, фоновая группа – $73,8 \pm 9,9\%$) и клинически здоровых животных (контрольная группа – $73,5 \pm 3,7\%$) существенно не отличалась и находилась на высоком уровне. БАСК лошадей, получавших пробиотик (опытная группа 2 – $62,1 \pm 4,6\%$), была ниже на 15% в сравнении с контрольной группой здоровых животных.

Через 7 сут после дегельминтизации у лошадей опытных групп БАСК снизилась в 1,7 раза ($38,2 \pm 3,3\%$ и $35 \pm 2,6\%$ соответственно), а у животных, не получавших антигельминтика, – в 3 раза (контрольная группа – $23,7 \pm 3,9\%$, фоновая группа – $23,7 \pm 4\%$). В опытных группах значения БАСК оказались выше показателей контрольной и фоновой групп. Достоверные измене-

Таблица 1
Бактерицидная активность сыворотки крови (%)

Группа	До дегельминтизации	7 дней	15 дней	45 дней
Контрольная	73,5 ± 3,7	23,7 ± 3,9	68,8 ± 3,9	44,1 ± 6,8*
Фоновая	73,8 ± 9,9	23,7 ± 4*	59,2 ± 4,7	41 ± 8,7*
Опытная 1	67,4 ± 6,7	38,2 ± 3,3*	64,7 ± 4,5	39,9 ± 4,4*
Опытная 2	62,1 ± 4,6	35 ± 2,6*	76 ± 3,5*	38 ± 4,2*

* $p < 0,05-0,001$ – достоверно по отношению к показателям до дегельминтизации.

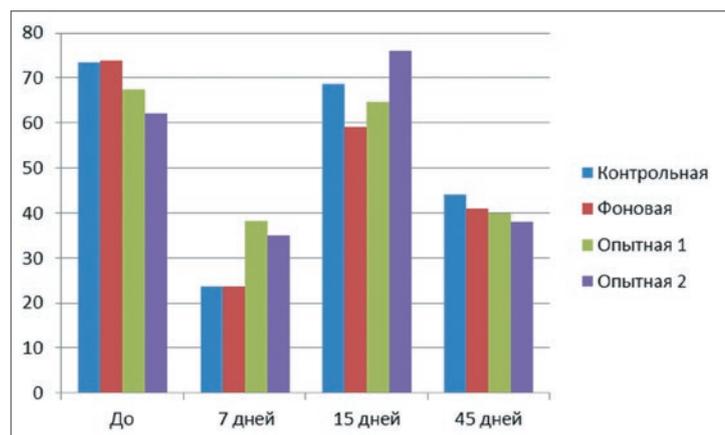


Рис. 1. Динамика бактерицидной активности сыворотки крови

Таблица 2
Лизоцимная активность сыворотки крови (%)

Группа	До дегельминтизации	7 дней	15 дней	45 дней
Контрольная	31,5 ± 1,2	35,9 ± 2,1*	41,3 ± 1,2*	34,6 ± 2,1
Фоновая	25,1 ± 1,6**	30,9 ± 2,5	37,3 ± 2,2*	33,8 ± 3,9
Опытная 1	25,2 ± 1,2**	37,2 ± 1,9*	40,3 ± 1	33,4 ± 2,3*
Опытная 2	27,3 ± 1**	37,8 ± 2*	35,9 ± 1,5**	33,5 ± 1,9*

* $p < 0,05-0,001$ – достоверно по отношению к показателям до дегельминтизации,

** $p < 0,05$ – достоверно относительно контроля.

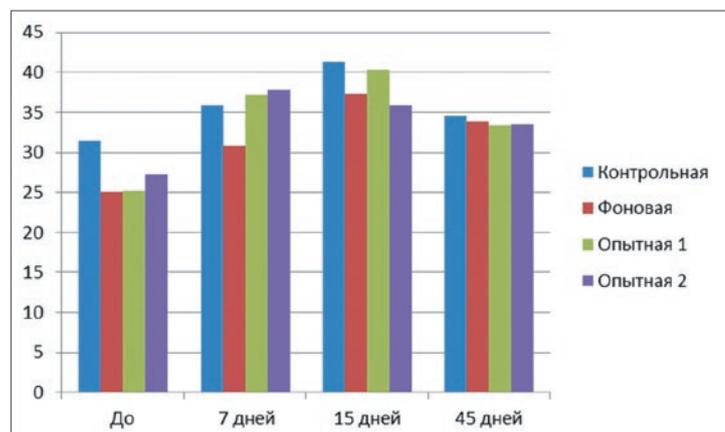


Рис. 2. Динамика лизоцимной активности сыворотки крови

ния БАСК в контрольной группе установлены только на 45 сут исследования.

Достоверное снижение показателей БАСК получено в фоновой и опытных группах на 7 сут после дегельминтизации (фоновая группа – 23,7 ± 4%, опытная 1 – 38,2 ± 3,3%, опытная 2 – 35 ± 2,6%).

Спустя 15 сут после дегельминтизации значение БАСК контрольной, фоновой и опытной 1 групп увеличилось в 3, 2,5 и 1,7 раза соответственно относительно результатов, полученных через 7 сут после дегельминтизации. Однако показатели БАСК в этих группах не достигли значений, полученных до дегельминтизации. БАСК лошадей, которым давали пробиотик (опытная группа 2), увеличилась на 22,5% (76 ± 3,5%) по сравнению с результатами до дегельминтизации. Различия статистически достоверны ($p < 0,05$).

После 45 сут бактерицидная активность в сравнении с результатами до дегельминтизации снизилась в контрольной группе в 1,6 раза (44,1 ± 6,8%), в фоновой группе – в 1,8 раза (41 ± 8,7%), в опытной 1 – в 1,7 раза (39,9 ± 4,4%), в опытной 2 – в 1,6 раза (38 ± 4,2%). Полученные данные статистически достоверны ($p < 0,05$).

Лизоцимная активность сыворотки крови в начале опыта у здоровых животных (31,5 ± 1,2%) оказалась выше на 20% по сравнению с инвазированными глистами лошадьми (фоновая группа – 25,1 ± 1,6%, опытная 1 – 25,2 ± 1,2%, опытная 2 – 27,3 ± 1%). В опытной группе 2 значение ЛАСК оказалось выше, чем в фоновой и опытной 1 группах, но ниже показателей здоровых животных.

В контрольной группе на протяжении всего опыта лизоцимная активность изменялась незначительно и была чуть выше, чем у лошадей опытных и фоновой групп.

Спустя 7 сут после дегельминтизации в опытных группах значение ЛАСК возросло в 1,5 раза (37,2 ± 1,9% и 37,8 ± 2%) и превысило показатели здоровых животных (35,9 ± 2,1%). Полученные данные являются статистически значимыми ($p < 0,05$).

Получены достоверные различия ЛАСК у лошадей фоновой и контрольной групп на 15-й день после дегельминтизации относительно показателей до дегельминтизации (фоновой группы – 59,2 ± 4,7%, контрольной – 68,8 ± 3,9%).

К 45-м сут показатели ЛАСК крови у дегельминтизированных лошадей первой (33,4 ± 2,3%) и второй (33,5 ± 1,9%) опытных групп возросли на 25% по сравнению с показателями ЛАСК до дегельминтизации, но оказались ниже значений для здоровых животных контрольной группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования отмечено достоверное снижение БАСК лошадей после дегельминтизации препаратом «Универм». К 45-м сут опыта восстановления показателей БАСК дегельминтизированных лошадей до значений показателей для здоровых животных не произошло. Вероятно, это обусловлено токсическим действием антигельминтика и влиянием антигенов, выделяющихся при гибели паразитов.

Спустя 15 сут после дегельминтизации значение БАСК у животных, получивших пробиотик Bioximin horse, превысило показатели здоровых животных на 9,5%, зараженных недегельминтизированных – на 22%, зараженных дегельминтизированных – на 15%. Также

на 15-е сут отмечено достоверное увеличение БАСК на 18% у лошадей, получавших пробиотик, относительно показателей до дегельминтизации ($p < 0,05$). Из вышеизложенного можно сделать вывод о стимулирующем действии пробиотика Bioxumin horse на бактерицидную активность сыворотки крови лошадей.

У здоровых лошадей на протяжении всего опыта показатели ЛАСК на порядок выше в сравнении с животными с параскариозно-стронгилятозной инвазией. Это указывает на отрицательное воздействие инвазионных болезней на лизоцимную активность сыворотки крови лошадей. При этом значительного влияния антигельминтика «Универм» на ЛАСК не выявлено. Установлено, что у лошадей, получавших пробиотик Bioxumin horse, показатели ЛАСК до дегельминтизации выше, чем у зараженных недегельминтизированных и у зараженных дегельминтизированных животных.

К 45-м сут исследования динамика показателей ЛАСК меняет свою направленность в сторону уровня «до дегельминтизации», что свидетельствует о повторном инвазировании гельминтами опытных животных. Это подтверждается и снижением экстенсэффективности препарата до 80% на 30-е сут опыта.

Анализ результатов исследований свидетельствует о том, что и глистная инвазия, и использование антигельминтного препарата «Универм» из группы макроциклических лактонов оказывают депрессивное влияние на гуморальный иммунитет лошади. Это также отражается на экстенсэффективности антигельминтика.

Пробиотик Bioxumin horse положительно действует на некоторые показатели гуморального иммунитета лошади. Корректировка гуморального иммунитета пробиотиком Bioxumin horse в период дегельминтизации препаратом из группы макроциклических лактонов возможна и требует дальнейшего изучения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Архипов И. А. Антигельминтики: фармакология и применение. – М., 2009. – 406 с.
- Данилевская Н. В., Ливанова М. А., Ливанова Т. К. Опыт коррекции дерматологических нарушений и обмена веществ у жеребых племенных кобыл в зимне-весенний период // Материалы V Междунар. науч.-практ. конф. по болезням лошадей. – М., 2004. – С. 129–134.
- Евсеева О. В. Влияние аскаридов на состав и свойства микрофлоры пищеварительного канала свиней и нормализация ее состава пробиотиком: дис. ... канд. биол. наук. – М., 1999. – 120 с.
- Ершов В. С., Наумычева М. И. Иммунитет при гельминтозах // Гельминтозы с.-х. животных. Итоги науки. – М., 1970. – С. 5–41.
- Звягинцева Н. С., Ясинецкая Н. И., Головкина Л. П. Опыт оздоровления аверсектиновыми препаратами диких и домашних лошадей от энтеропаразитов // Материалы VI Междунар. симпозиума, посвящ. 100-летию разведения лошади Пржевальского в заповеднике «Аскания-Нова». – Киев, 1999. – С. 100–101.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
- Ларина Л. П., Курочкина К. Г. Влияние фезола на иммунный ответ // Тр. Всероссийского НИИ гельминтологии им. К. И. Скрябина. – М., 2006. – Т. 42. – С. 193–199.
- Муллагалиева О. А. Использование противопаразитарных препаратов при нематодозах лошадей // Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регион: материалы II Междунар. молодежн. науч.-практ. конф., 27 апреля 2017 г. – Вологда: ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА, 2017. – С. 84–87.
- Муллагалиева О. А. Оценка уровня естественной резистентности лошадей на фоне применения антигельминтика из группы макроциклических лактонов // Молодые исследователи агропромышленного

и лесного комплексов – регион: материалы III Междунар. молодежн. науч.-практ. конф., 26 апреля 2018 г. – Вологда: ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА, 2018. – С. 103–108.

10. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных: методические рекомендации // Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. 4: Лабораторные методы исследований инфекционной патологии животных. – М., 2008. – С. 100–117.

11. Саушкин В. В. Комплексный антипаразитарный препарат, не обладающий иммуносупрессией // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: материалы докладов научн. конф. – М., 2001. – С. 246–247.

12. Технология применения препарата «Сахабактисубтил» для нормализации кишечного микробиоценоза лошадей при дегельминтизации // Л. М. Кокколова, Н. П. Тарабукина, М. П. Неустроев, Л. Ю. Гаврильева; под ред. М. П. Неустроева. – Якутск: ФГБНУ ЯНИИСХ, 2013. – 14 с.

REFERENCES

- Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and use [Antigel'mintiki: farmakologiya i primeneniye]. M., 2009 (in Russian).
- Danilevskaya N. V., Livanova M. A., Livanova T. K. Best practice of dermatological and metabolic disorder correction in pregnant breeding mares in winter and spring [Opyt korrekcii dermatologicheskikh narushenij i obmena veshchestv u zherebyh plemennykh kobyl v zimne-vesennij period]. *Proceedings of International research conference on equine diseases*. M., 2004; 129–134 (in Russian).
- Yevseyeva O. V. Effect of Ascaris on gut flora composition and properties in pigs and recovery of its composition with probiotic [Vliyaniye askarisov na sostav i svojstva mikroflory pishchevaritel'nogo kanala svinej i normalizatsiya ee sostava probiotikom]: theses. ... Candidate of Science (Veterinary Medicine). M., 1999 (in Russian).
- Yershov V. S., Naumycheva M. I. Immunity at helminthic infestation [Immunitet pri gel'mintozah]. *Gel'mintozy s.-h. zhivotnykh. Itogi nauki*. M., 1970; 5–41 (in Russian).
- Zvyagintseva N. S., Yasinetskaya N. I., Golovkina L. P. Best practice of treatment of wild and domestic horses against enteroparasits with aversectins [Opyt ozdorovleniya aversektinovymi preparatami dikih i domashnih loshadej ot enteroparazitov]. *Proceedings of the VIth International symposium devoted to the 100 anniversary of Przewalski's horse in Askania-Nova reserve*. Kyiv, 1999; 100–101 (in Russian).
- Lakin G. F. Biometrics [Biometriya]. M.: Vysshaya shkola, 1973 (in Russian).
- Larina L. P., Kurochkina K. G. Fezol effect on immune response [Vliyaniye fezola na immunnij otvet]. *Proceedings of All-Russian RI of Helminthology named after K. I. Skryabin*. M., 2006; 42: 193–199 (in Russian).
- Mullagalieva O. A. Use of antiparasitic agents against equine nematodes [Ispol'zovanie protivoparazitarnykh preparatov pri nematodozah loshadej]. *Molodye issledovateli agropromyshlennogo i lesnogo kompleksov – regionam: Proceedings of the II International Research-to-Practice Youth Conference, April 27, 2017*. Vologda: FSBEI HPE "Vologda SDFa named after N. V. Vereshchagin"; 2017; 84–87 (in Russian).
- Mullagalieva O. A. Young researchers of agro-industrial and forestry complexes to the regions [Ocenka urovnya estestvennoj rezistentnosti loshadej na fone primeneniya antgel'mintika iz grupy makrociklicheskikh laktonov]. *Molodye issledovateli agropromyshlennogo i lesnogo kompleksov – regionam: Proceedings of the IId International Research-to-Practice Youth Conference, April 27, 2017*. Vologda: FSBEI HPE "Vologda SDFa named after N. V. Vereshchagin"; 2018; 103–108 (in Russian).
- Evaluation of natural resistance of farm animals: methodical instructions [Ocenka estestvennoj rezistentnosti sel'skohozyajstvennykh zhivotnykh: metodicheskie rekomendacii]. *Novye metody issledovanij po problemam veterinarnoj mediciny. Ch. 4: Laboratornye metody issledovanij infekcionnoj patologii*. M., 2008; 100–117 (in Russian).
- Saushkin V. V. Complex antiparasitic agent lacking immunosuppression [Kompleksnyj antiparazitarnyj preparat, ne obladayuschij immunosupressiej]. *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami: Proceedings of the research conference*. M., 2001; 246–247 (in Russian).
- Sakhabactisubtil administration technology for normalization of intestinal microbiocenosis of horses during deworming [Tekhnologiya primeneniya preparata «Sahabactisubtil» dlya normalizacii kishhechnogo mikrobiocenoza loshadej pri degel'mintizacii]. L. M. Kokolova, N. P. Tarabukina, M. P. Neustroyev, L. Yu. Gavriyleva; ed. by M. P. Neustroyev. – Yakutsk: FGBRI YSRIA, 2013 (in Russian).

Поступила 11.04.19
Принята в печать 30.04.19