

Гематологические показатели перепелов после лечения их лекарственным соединением «С-16»

С.А. Зеленская, аспирантка, **М.Х. Лутфуллин**, д.в.н., профессор, **Р.Р. Галяутдинова**, аспирантка, ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ; **З.Х. Терентьева**, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ

Гематологическое исследование крови является одним из важнейших диагностических методов, отражающих реакцию кроветворных органов при воздействии на организм различных физиологических и патологических факторов. Во многих случаях оно играет большую роль в постановке диагноза, а при заболеваниях системы кроветворения ему отводится ведущая роль [1].

Развивающийся рынок фармации не обошёл стороной и ветеринарную фармакологию. В настоящее время идёт расширение ассортимента отечественных ветеринарных препаратов, в частности противопаразитарных средств.

Эффективность различных антигельминтных препаратов при гельминтозах птиц нельзя полностью оценивать только на основании изучения интенс- и экстенсэффективности, поэтому при разработке лекарственных средств очень важно учитывать их влияние на гематологические показатели крови.

В Казанском химическом институте А.М. Бултерова (Казанский (Приволжский) федеральный университет) был разработан препарат «Соль фосфония С-16», на который получен патент № 2629316 «Средство для лечения нематодозов и эймериозов в ветеринарии», обладающий противопаразитарными свойствами в отношении кишечных паразитов животных и птиц [2–5].

Положительные результаты исследований, полученные при изучении лечебной эффективности лекарственного соединения «С-16» при кишечных паразитозах птиц, явились основой для изучения фармакодинамики данного соединения.

Цель исследования – изучить гематологические показатели у экспериментально инвазированных

аскаридиями перепелов при лечении их новым лекарственным соединением «С-16».

Материал и методы исследования. Работа была выполнена на базе лаборатории кафедры эпизоотологии и паразитологии Казанской ГАВМ им. Н.Э. Баумана в 2017 г. Объектом исследования служили перепела техасской породы (Белый фараон), женского пола, с массой тела 370–420 г. Птицы были получены из благополучного по инвазионным болезням хозяйства. Проведённое копроскопическое исследование показало отрицательные результаты.

В опыте по изучению сравнительной эффективности препаратов для лечения инвазированных аскаридозом птиц использовали 100 перепелов, клинически здоровых и свободных от кишечных паразитов, в возрасте 3 мес. 80 перепелов заражали инвазионными яйцами нематоды *Ascaridia galli* в дозе 500 яиц на гол.

Для приготовления инвазионного материала брали свежий помёт от перепелов из хозяйства, неблагополучного по инвазионным болезням. Помёт помещали в пробирку и увлажняли 2-процентным раствором двуххромовокислого калия. Материал перекладывали в бактериологические чашки и ставили для созревания яиц в термостат с температурой 25°C и при влажности 90% на 20 суток. После того как в среднем 60% яиц стали инвазионными из помёта готовили взвесь на насыщенном растворе сахара (плотность 1,28), которую фильтровали и центрифугировали при 1500 оборотах в течение 2 мин. Из надосадочной жидкости производили подсчёт инвазионных яиц в счётной камере ВИГИС, и с помощью зонда взвесь вводили каждому перепелу в пищевод.

Перепела каждой группы во время эксперимента содержались в индивидуальных клетках. Условия содержания и кормления во время проведения опыта соответствовали зооигиеническим нормам. Кормили птиц специализированным сухим кормом для перепелов. После 2-недельного карантина 5

птиц были отобраны для гематологического исследования «до заражения». 80 птиц экспериментально заражали аскаридиями, из них 5 птиц отобрали для изучения гематологических показателей «до лечения» и 75 для самого опыта.

Для проведения экспериментов по принципу аналогов было сформировано шесть групп (4 опытные, 1 контрольная и 1 интактная), по 15 птиц в каждой. Перепелам I опытной гр. внутрь вводили препарат «С-16» в терапевтической дозе – 2 мг/кг живой массы (по ДВ), II опытной гр. – «С-16» в пятикратно завышенной дозе (10 мг/кг), III опытной гр. – альбендазол 10% (50 мг/кг), IV опытной гр. – фенбендазол 20% – 20 мг/кг. Перепела V контрольной гр. лекарственных препаратов не получали, птицы VI гр. были интактными (табл.).

Через 40 дней после искусственного заражения у перепелов всех групп в пробах помёта были выявлены яйца аскаридий. После установления инвазии перепелам всех опытных групп задавали препарат однократно внутрь.

Для исследования гематологических показателей у перепелов брали кровь путём декапитации в пробирки с ЭДТА, с последующим подсчётом количества эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина общепринятыми методами. Для выведения лейкоцитарной формулы готовили мазки крови. Кровь брали до заражения, после и через 7, 14 и 21 сут. после дачи препаратов. В день взятия крови подсчитывали общее число эритроцитов и лейкоцитов в камере Горяева, готовили мазки крови для определения лейкоцитарной формулы. Гематологические показатели определяли общепринятыми лабораторными методами [6–9]. Мазки крови окрашивали красками из набора «Лейкодиф».

Статистическую обработку результатов эксперимента проводили общепринятыми методами, достоверность различий между сравнительными значениями гематологических параметров оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования. Изучение морфологического состава крови птиц показало, что после экспериментального заражения перепелов аскаридозом количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина и процентное соотношение клеток белой крови у здоровых и заражённых птиц достоверно различались (табл.).

По таблице видно, что у перепелов, экспериментально заражённых аскаридозом, до лечения наблюдалось выраженное изменение в гемопоэзе, которое сопровождалось эритропенией, лейкоцитозом, гипогемоглобинемией. По лейкоформуле видно, что у птиц отмечен нейтрофильный лейкоцитоз, эозинофилия и лимфоцитопения, которые связаны с патогенным действием гельминтов и возможным последующим развитием вторичной инфекции.

Произошло достоверное по сравнению с исходными показателями крови «до заражения», снижение количества эритроцитов – на 44,2% ($P < 0,01$),

гемоглобина – на 39,7% ($P < 0,001$), увеличилось число лейкоцитов – на 55,7% ($P < 0,01$). По лейкограмме видно, что в организме происходит аллергический процесс, вызванный патогенным влиянием паразитов в кишечнике, в связи с чем возникла видимая эозинофилия. До заражения этот показатель составлял $1,80 \pm 0,42\%$, против $12,80 \pm 1,08\%$ после заражения, что на 86% ($P < 0,001$) выше первоначальной величины. Увеличение количества псевдоэозинофилов говорит о начале развития вторичной инфекции, вызванной травматизацией стенок кишечника паразитами, соответственно наблюдается снижение лимфоцитов – на 41,8% ($P < 0,001$). Заметной разницы в поведении, активности, приёме корма и воды у здоровых и инвазированных птиц практически не наблюдалось, кроме снижения яйценоскости у вторых.

На 7-е сут. от начала лечения наблюдалось повышение количества эритроцитов в крови перепелов относительно данных до лечения. У птиц I гр. данный показатель составил $2,92 \pm 0,07 \cdot 10^{12}/л$, что было на 19,6% ниже показателей в интактной гр. ($P < 0,01$), II гр. – на 21,2%, III – на 23,4%, IV – на 28,9%. Фоновый показатель в V гр. был ниже на 44,3% ($P < 0,001$).

Количество лейкоцитов в крови перепелов I гр. составляло $31,20 \pm 1,92 \cdot 10^9/л$, что на 26,9% превышало показатели в интактной гр. ($P < 0,01$), во II гр. – на 25%, в III – на 34,4%, в IV – 36,6%, в V – на 52,5% ($P < 0,001$).

Уровень гемоглобина в крови птиц в I гр. после лечения увеличился на 18%, но был ниже на 23% относительно интактной группы, во II гр. – ниже на 25,7%, III – на 24,1%, IV – на 26,4, V – на 43,2% ($P < 0,001$) соответственно.

Из лейкоформулы видно, что с гибелью паразитов и освобождением организма от них процентный показатель эозинофилов, относительно данных до лечения, в крови перепелов I гр. снизился на 50%, но был выше на 34,3% относительно показателей интактной группы, во II гр. – выше на 31,4%, в III гр. – на 33,3%, в IV гр. – на 28,9% и в V гр. (не леченные) на 85,3% ($P < 0,001$).

Процентный показатель псевдоэозинофилов относительно показателей до лечения снизился на 26,7% в крови птиц всех опытных групп, но относительно крови перепелов интактной группы был выше: в I гр. – на 46,7%, во II гр. – на 43,1%, в III гр. – на 52%, в IV гр. – на 53,6%. В крови птиц V (не леченные) гр. показатель был выше на 70,8%.

Таким образом, на 7-е сут. лечения гематологические показатели птиц после однократного введения им препарата «С-16» в разных дозах немного превосходили показатели у птиц, леченных альбендазолом и фенбендазолом. Предположительно это может быть связано с антибактериальным эффектом препарата [10].

На 14-е сут. после введения препаратов гематологические показатели практически возвратились

1. Морфологические показатели крови экспериментально заражённых перепелов в процессе лечения (n = 5)

| Показатель | Эритроциты ×10 ¹² /л | Лейкоциты ×10 ⁹ /л | Гемоглобин, г/л | Лейкограмма, % | | | | |
|------------|------------------------------------|----------------------------------|--------------------|----------------------------------|--------------|-------------|------------|--------------|
| | | | | псевдо- эозинофилы | эозинофилы | базофилы | моноциты | лимфоциты |
| Группа | | | | Исходные показатели до заражения | | | | |
| Контроль | 3,76±0,09 | 24,20±1,19 | 166,40±4,32 | 12,20±0,96 | 1,80±0,42 | 0,40±0,27 | 2,40±0,57 | 83,80±1,64 |
| Заражённые | 2,10±0,15* | 43,40±2,89** | 100,40±3,17** | 31,20±1,43* | 12,80±1,08** | 2,80±0,42* | 4,40±0,57* | 48,80±2,95** |
| | | | | Данные до лечения | | | | |
| | | | | 7-е сут. лечения | | | | |
| I | 2,92±0,07* | 31,20±1,29* | 122,40±3,17* | 21,80±1,43* | 6,40±0,57* | 2,00±0,35* | 3,00±0,35 | 66,80±1,78* |
| II | 2,86±0,09* | 30,40±1,15* | 118,00±5,18* | 20,40±1,20* | 7,00±0,79* | 1,60±0,27 | 3,40±0,27 | 67,60±0,84* |
| III | 2,78±0,10* | 34,80±1,85* | 120,60±2,95* | 24,20±0,82* | 6,60±0,57* | 1,80±0,42* | 3,20±0,42 | 65,00±0,79* |
| IV | 2,58±0,16* | 36,00±1,70* | 117,00±2,74* | 25,00±0,94* | 7,60±0,57* | 2,20±0,42* | 3,60±0,57 | 61,60±1,64* |
| V | 2,02±0,05* | 48,00±1,77** | 90,20±1,64** | 39,80±2,04** | 15,00±0,79** | 3,20±0,42* | 5,60±0,57* | 36,40±2,80** |
| VI | 3,63±0,15 | 22,80±1,19 | 159,00±4,51 | 11,60±1,20 | 2,20±0,22 | 0,20±0,22 | 3,20±0,42 | 82,80±1,08 |
| | | | | 14-е сут. лечения | | | | |
| I | 3,66±0,23 | 23,40±1,20 | 159,40±4,35 | 14,00±1,46 | 2,20±0,42 | 1,00±0,35 | 2,20±0,65 | 80,60±1,82 |
| II | 3,36±0,22 | 25,80±0,82 | 163,40±4,72 | 12,80±1,44 | 2,00±0,50 | 0,80±0,22 | 1,80±0,42 | 81,40±2,05 |
| III | 3,50±0,21 | 27,00±1,58 | 155,60±6,10 | 16,40±0,91* | 2,80±0,65 | 0,80±0,42 | 2,60±0,45 | 77,40±1,79 |
| IV | 3,18±0,12* | 28,20±1,14 | 153,80±5,10 | 18,00±1,12* | 3,20±0,65 | 1,20±0,42 | 2,80±0,42 | 74,80±1,64 |
| V | 1,82±0,07** | 52,40±2,20** | 87,80±1,95** | 45,40±2,61** | 17,20±0,82** | 3,60±0,27** | 7,00±0,79* | 26,80±1,98** |
| VI | 3,58±0,15 | 24,19±1,51 | 161,60±3,09 | 11,00±0,79 | 1,40±0,27 | 0,60±0,27 | 2,20±0,42 | 81,80±1,08 |
| | | | | 21-е сут. лечения | | | | |
| I | 3,60±0,23 | 22,80±1,29 | 161,00±4,91 | 13,16±1,82 | 2,00±0,35 | 0,60±0,27 | 2,60±0,45 | 81,00±1,37 |
| II | 3,74±0,20 | 23,00±1,12 | 159,60±3,98 | 14,00±1,00 | 2,40±0,57 | 0,20±0,22 | 3,40±0,27 | 80,60±1,04 |
| III | 3,82±0,25 | 25,00±1,27 | 157,20±4,22 | 15,00±1,12 | 1,80±0,22 | 0,40±0,27 | 3,60±0,57 | 79,00±0,79 |
| IV | 3,54±0,16 | 21,60±1,20 | 164,00±3,34 | 13,20±0,74 | 2,20±0,65 | 0,60±0,45 | 3,00±0,50 | 80,60±2,14 |
| V | 1,72±0,10** | 57,00±2,55** | 84,20±4,38** | 46,60±2,41* | 16,80±1,98* | 4,00±0,35** | 7,20±0,74* | 24,00±3,54** |
| VI | 3,72±0,20 | 25,52±0,93 | 158,20±2,63 | 10,20±0,89 | 1,60±0,27 | 0,40±0,27 | 2,00±0,71 | 85,80±1,55 |

Примечание: * – P<0,01; ** – P<0,001

к исходным данным. Заметная разница наблюдалась у птиц IV гр.: количество эритроцитов равнялось $3,18 \pm 0,12 \cdot 10^{12}/л$ ($P < 0,01$), что было на 11,1% ниже показателей у перепелов интактной группы. Содержание лейкоцитов было выше на 14,2%, из них количество псевдоэозинофилов на 44,5%, эозинофилов – на 56,2% выше показателей в интактной гр. Это указывает на длительный воспалительный процесс, происходящий в организме.

У птиц V гр. показатели достоверно отличались от VI интактной. У них визуально наблюдались бледность гребешка и конечностей, отмечалась раздражительность.

На 14-е сут. после лечения у птиц I, II и III опытных гр. гематологические показатели достигли физиологической нормы. Они были свободны от паразитов, об этом свидетельствуют данные, полученные при копроскопическом исследовании перепелов опытных групп, которые были свободны от кишечных паразитов. Показатели у перепелов I и II опытных гр., которым вводили препарат «С-16», были не достоверны относительно показателей в VI интактной гр. Препарат альбендазол 10% также показал хорошие результаты, но процентное соотношение псевдоэозинофилов отличалось от интактной гр. и было выше на 32% ($P < 0,01$).

На 30-е сутки после начала эксперимента у перепелов четырёх опытных групп гематологические показатели были в пределах физиологической нормы, сами птицы были активные, отклонений в поведении, приёме корма и воды не наблюдалось, яйценоскость была регулярной. У птиц V гр. (фоновый показатель) были выражена анемия гребней, взъерошенный перьевой покров, раздражительность. Гематологические показатели относительно интактной группы достоверно различались и заметно отличались от показателей птиц опытных групп. Наблюдалась эритроцитопения – $1,72 \pm 0,10 \cdot 10^{12}/л$, что было на 53,7% ($P < 0,001$) ниже показателей у перепелов интактной группы, выраженный лейкоцитоз – $57,23 \pm 2,18 \cdot 10^9/л$ – выше на 55,4% ($P < 0,001$). Уровень гемоглобина снизился до $84,20 \pm 4,38$ г/л (46%), белые кровяные тельца в лейкоформуле также достоверно различались относительно интактной группы, что свидетельствует о сильном воспалительном процессе в организме.

Выводы: 1. У перепелов, искусственно зараженных нематодой *Ascaridia galli*, после лечения препаратами «С-16», альбендазолом и фенбендазолом гематологические показатели полностью восстанавливаются до физиологической нормы на 14-е сут., что говорит о хорошей переносимости птицами этих антигельминтиков.

2. В крови у перепелов, заражённых нематодой *Ascaridia galli*, отмечается эритропения, гипоглобинемия и лейкоцитоз. Анализ лейкоцитарной формулы показывает, что у птиц выявлена эозинофилия, лимфоцитопения, которые связаны с патогенным действием гельминтов и возможным последующим развитием вторичной инфекции.

Литература

1. Садовников Н.В. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов / Н.В. Садовников, Н.Д. Придыбайло, Н.А. Вершак, А.С. Заслонов // Екатеринбург-СПб., 2009. С. 8–15.
2. Галкина И.В. Взаимодействие солей фосфония с липидными компонентами мембран / И.В. Галкина, Н.Б. Мельникова, Е.В. Тудрий, В.И. Галкин, О.Е. Жильцова, О.В. Жукова, С.Н. Егорова // Фармация. 2009. № 4. С. 35–38.
3. Зеленская С.А., Гизатуллин Р.Р., Лутфуллина Н.А. Изучение острой токсичности лекарственного средства «С-16» // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. М., 2017. С. 179–180.
4. Зеленская С.А., Лутфуллин М.Х. Острая токсичность и кумулятивные свойства лекарственной субстанции «С-16» на белых мышах // Современные проблемы общей и частной паразитологии: Матер. II междунар. паразит. симпозиум. СПб., 2017. С. 115–119.
5. Пат. 2629316 Рос. Федерация: МПК51 А61К 31/00 31/66 36/185 33/02 33/14 Средство для лечения нематодозов и эймериозов в ветеринарии / И.В. Галкина, Д.И. Бахтияров, Р.И. Шангараев, С.А. Зеленская, Р.Р. Гизатуллин, Н.А. Лутфуллина, М.Х. Лутфуллин, В.И. Галкин; заявитель и патентообладатель ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (ФГАОУ ВО КФУ) (RU). № 2017108570; заявл. 14.03.2017; опубл. 28.08.2017, Бюл. № 25. 4 с.
6. Бессарабов Б.Ф. Гематологические показатели и здоровье птиц / Б.Ф. Бессарабов, С. Алексеева, Л. Клетиков [и др.] // Животноводство России. 2009. № 3. С. 17–18.
7. Битюков И.П., Лысов В.Ф., Сафронов Н.А. Практикум по физиологии сельскохозяйственных животных. М.: Агропромиздат, 2009. 256 с.
8. Болотников И.А., Соловьев Ю.В. Гематология птиц. Л.: Наука, 1980. 116 с.
9. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / И.П. Кондрахин, А.В. Архипов, В.И. Левченко, Г.А. Таланов, Л.А. Фролова, В.Э. Новикова / Под ред. И.П. Кондрахина. М.: КолоС, 2004. 520 с.
10. Галкина И.В. Синтез и апробация новых антигельминтиков / И.В. Галкина, М.Х. Лутфуллин, С.Н. Егорова, Р.Ф. Мавлиханов, Н.А. Лутфуллина, А.М. Идрисов, Н.В. Воробьева, Р.И. Хамидуллин, Л.М. Юсупова, Л.В. Спатлова, В.И. Галкин // Российский паразитологический журнал. 2010. № 2. С. 99–105.