

ВПЛИВ ІМУНОСТИМУЛЯЦІЇ В КОМПЛЕКСІ ОЗДОРОВЧОЇ ТЕРАПІЇ НА ПОКАЗНИКИ МОРФОЛОГІЧНОЇ КАРТИНИ КРОВІ СОБАК ДО І ПІСЛЯ ВАКЦИНАЦІЇ ПРОТИ ЛЕПТОСПІРОЗУ

О. М. Турченко, аспірант*

Сумський національний аграрний університет

*Науковий керівник – к.вет.н., професор Г.А. Зон

В ході проведеного дослідження були вивчені особливості морфологічної картини крові собак перед вакцинацією проти лептоспірозу і після неї в звичайних умовах, а також із застосуванням у період превакцинальної підготовки імуностимулятора «Мікростимулін» в ряді інших терапевтичних заходів. У статті наведені дані показників морфологічної картини крові собак, які свідчать про те, що застосування комплексу лікувально-оздоровчих заходів з використанням імуностимулятора «Мікростимулін» на стадії підготовки тварин до вакцинації проти лептоспірозу є істотним чинником забезпечення ефективності вакцинації, а, отже, створює потенційний регрес динаміки захворюваності тварин і людей на лептоспіроз.

Ключові слова: вакцинація, лептоспіроз, мазки крові, формені елементи, собаки.

Постановка проблеми в загальному вигляді.

Захворювання собак на лептоспіроз є перманентною проблемою як в Україні в цілому, так і в Сумському регіоні. Превентивною мірою профілактики захворюваності собак на лептоспіроз є вакцинація. Завданням проведення вакцинації проти даного зооантропонозу є забезпечення належної імунної відповіді організму тварини в разі її контакту з лептоспірами. Проблема становить той факт, що у випадку низького імунного статусу в організмі собаки не формується напружений імунітет на введену вакцину, що значно знижує ефективність вакцинації і підвищує ймовірність зараження такої тварини лептоспірозом. Рішення даної проблеми полягає у обов'язковому дослідженні показників крові тварин у превакцинальний період, а у випадку виявлення відхилень від норми – проведення оздоровчих заходів та курсу імуностимулюючої терапії перед плановою вакцинацією, зокрема, проти лептоспірозу.

Зв'язок проблеми з важливими науковими та практичними завданнями. Робота виконувалась в рамках дисертаційного дослідження, що є складовою НДР кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці («Розробити систему контролю епізоотичного благополуччя щодо інфекційних хвороб тварин на підставі моніторингу, діагностики, прогнозування та оцінки безпечності продукції тваринництва і птахівництва в Північно-Східній Україні (номер державної реєстрації 01114U001261)»), спільно з Чеським університетом природничих наук (CULS), Прага.

Важливим науковим та практичним завданням було дослідження формування імунної відповіді організму піддослідних тварин на експериментальне введення їм лікувальних засобів та вакцин шляхом вивчення картини їх крові на всіх етапах дослідної роботи.

Аналіз досліджень та публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми. Аналізуючи дані публікацій з досліджуваного питання було виявлено, що низький рівень імунітету собак є фактором зниження ефективності вироблення організмом на щеплення поствакцинальних антитіл, що також прямо впливає на показники рівня напруженості і тривалості поствакцинального імунітету [2,3], оскільки кількість вироблених організмом антитіл у відповідь на дію антигену знаходиться у чіткій кореляції з імунним статусом тварини [1].

Наукові дані, отримані в результаті досліджень морфологічної картини крові тварин, свідчать про наявність певних змін, пов'язаних із кількістю різних видів кров'яних

клітин та їх морфологічними особливостями, які можна співвіднести із характеристиками та змінами стану здоров'я тварин, станом імунної системи [5]. Таким чином, досліджуючи морфологію формених елементів крові та аналізуючи клітинний склад крові, можна робити висновки про те, у якому стані знаходиться організм собаки, а також про вплив імуностимулюючої терапії на стан здоров'я тварин [4, 5].

Метою даного наукового дослідження було вивчення імунної відповіді організму собак на вакцинацію та аналіз морфологічної картини крові собак в перивакцинальний період; діагностика функціонального стану організму тварин і його корекція шляхом проведення лікувальної, відновлювальної та імуностимулюючої терапії, що є умовою ефективності формування та стабільності поствакцинального імунітету. Для досягнення мети було поставлено наступне завдання: вивчити особливості морфологічної картини крові собак в перивакцинальний період в залежності від застосовуваних їм фармакологічних препаратів.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводилися протягом трьох місяців - з вересня по листопад 2017 року в Сумському центрі перетримки безпритульних тварин «Притулок», в серологічному відділі Сумської філії державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, а також на базі приватної клініки ветеринарної медицини «Ветсервіс» м. Суми, Україна. Використовували епізоотологічний, клінічний, серологічний (РМА), гематологічний, мікроскопічний методи. Об'єктами досліджень були безпорідні цуценята, яким проводилася вакцинація проти лептоспірозу, а також проби крові цих тварин.

Відповідно до мети дослідження, експериментальна робота проводилася за напрямом вивчення особливостей морфологічної картини крові тварин в перивакцинальний період в залежності від застосовуваних їм лікарських препаратів.

Етапи роботи:

1. У Сумському центрі перетримки безпритульних тварин «Притулок» було відібрано 14 однакових за віком цуценят (2,5-3 місяці) без клінічних ознак хвороб, кожному з яких привласнено індивідуальний ідентифікуючий номер.

2. Забір крові у цуценят для проведення двох типів клініко-дослідних робіт:

2.1. дослідження сироватки крові в РМА в

серологічному відділі Сумської філії Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи з метою контролю відсутності у ній антитіл до лептоспир;

2.2. аналіз клітинного складу крові, оцінка морфології елементів крові і рівня гемоглобіну.

3. За результатами РМА-дослідження цуценя №10 був відбраковане з експерименту, оскільки в його крові були виявлені антитіла до *L. icterohaemorrhagiae* в титрі 1:100.

4. Детальна перевірка стану здоров'я 13 цуценят - їх огляд, зважування, збір даних, мікроскопічний аналіз збірної проби калу на яйця гельмінтів та проведення їм дворазової дегельмінтизації.

5. Виявлення у цуценят низького рівня кровотворення, зниження рівня гемоглобіну та наявності сильної інтоксикації організму (дані, отримані шляхом проведення аналізу клітинного складу крові, гемоглобінометрії, а також кількісної і якісної оцінки морфології елементів крові). Також у всіх експериментальних цуценят був гострий коліт внаслідок масової загибелі гельмінтів і їх елімінації, а також загальна слабкість організму, що було неприйнятно для проведення вакцинації.

6. Проведення піддослідним цуценят тижневого курсу відновно-детоксикаційної терапії та оздоровлюючих заходів. Лікування складалося з антибіотикотерапії (антибіотик Цефтіфорт, в/м), вітамінізації (вітамін В12, п/ш, як імуностимулятор і активатор гемопоезу), в/в і п/ш введення суміші 0,9% NaCl з 40% глюкозою та 5% аскорбінової кислотою і 5% глюкози з 5% аскорбінової кислотою.

7. Застосування інсектицидних нашійників всім цуценят для знищення ектопаразитів і профілактики їх нападу (блохи, воші, кліщі).

8. Виявлення мікроскопічним методом у 5 цуценят (№ 4, 11, 12, 13, 14) підшкірних кліщів *Sarcoptes canis* і виключення цих собак з числа піддослідних тварин внаслідок неможливості проведення їм вакцинації до моменту їх повного одужання.

9. Поділ 8 здорових цуценят (№ 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9) на 2 групи по 4 собаки в кожній: контрольну (№ 1, 2, 3, 5) і дослідну (№ 6, 7, 8, 9).

10. Застосування імуностимулятора «Мікростимулін» в дослідній групі собак (№ 6, 7, 8, 9) протягом 5 днів згідно з

інструкцією до даного препарату.

11. Вакцинація цуценят обох груп комбінованою вакциною Biosan DHPPI+Lepto (28.09.2017).

12. Ревакцинація цуценят обох груп комбінованою вакциною Biosan DHPPI+Lepto+Rabies (16.10.2017).

13. Перший поствакцинальний відбір проб крові цуценят для проведення РМА з метою визначення рівнів антитіл до лептоспир та оцінки якості поствакцинального імунітету, а також аналіз клітинного складу крові, оцінка морфології елементів крові і рівня гемоглобіну (31.10.2017).

14. Другий поствакцинальний відбір проб крові цуценят для проведення РМА з метою визначення рівнів антитіл до лептоспир та стабільності поствакцинального імунітету у собак через місяць після останньої вакцинації (17.11.2017).

Результати власних досліджень. У ході експерименту були досліджені зразки крові цуценят дослідної та контрольної груп до і після проведення їм дегельмінтизації, лікувально-оздоровчих заходів і профілактичних щеплень. Відмінність між обробками тварин обох груп полягала в тому, що цуценят дослідної групи задавали препарат «Мікростимулін», на відміну від цуценят контрольної групи. Забір крові у цуценят здійснювався двічі для проведення аналізу клітинного складу крові, оцінки морфології елементів крові та визначення рівня гемоглобіну. Вперше – для перевірки стану здоров'я тварин на початку досліду, а вдруге – після проведення їм дегельмінтизації, лікувальних заходів, імуностимуляції та дворазової вакцинації. Після отримання результатів кожного відбору проб крові їх аналізували, на підставі чого робили висновки і вносили необхідні корективи в хід досліду.

Було проведено аналіз мазків крові, забарвлених за Романовським-Гімзою, для визначення морфології клітин крові, їх кількісного і якісного складу. Результати перших лабораторних досліджень виявили у цуценят анемію і наявність інтоксикації організму (дані, отримані шляхом аналізу клітинного складу крові). В мазках крові собак виявили зрушення лейкоцитарної формули вліво, вакуолізацію гранулоцитів, збільшення кількості еозинофілів в кілька разів понад норму, часткову деструкцію еритроцитів, порушення морфології еритроцитів, зміну їх хроматографічних показників, що є характерним за наявності в організмі гельмінтозу, запальних процесів та сильного ступеня інтоксикації (табл. 1).

Таблиця 1

Лейкограма крові цуценят до і після проведення дегельмінтизації, лікування та дворазової вакцинації

№ собаки	Перше дослідження крові (12.09.2017)						Друге дослідження крові (31.10.2017)					
	П*	С*	Е*	М*	Б*	Л*	П*	С*	Е*	М*	Б*	Л*
	Контрольні до обробки і щеплення						Контрольні після обробки і щеплення					
1	6	36	18	7	3	30	5	21	–	3	8	64
2	2	40	5	3	2	48	2	43	2	3	2	48
3	9	38	12	3	1	37	6	23	–	2	4	65
4	6	30	9	–	–	55	–	22	–	5	13	60
5	5,75	36	11	3,25	1,5	42,5	3,25	27,25	0,5	3,25	6,75	59,25
	Дослідні до обробки і щеплення						Дослідні після обробки і щеплення					
6	7	58	15	5	3	12	4	26	–	2	10	58
7	6	39	13	4	–	38	1	18	–	1	11	69
8	10	44	12	4	2	28	4	33	1	2	5	55
9	9	70	5	3	–	13	3	40	1	1	5	50
10	8	52,75	11,25	4	1,25	22,75	3	29,25	0,5	1,5	7,75	58
	Цуценята, що вибули з досліду і контролю											
11	5	24	19	4	1	47	–	–	–	–	–	–
12	6	54	14	5	–	20	–	–	–	–	–	–

13	12	45	6	5	3	29	–	–	–	–	–	–
14	14	43	4	4	–	36	–	–	–	–	–	–
15	16	61	5	6	–	12	–	–	–	–	–	–
16	17	64	9	2	–	5	–	–	–	–	–	–

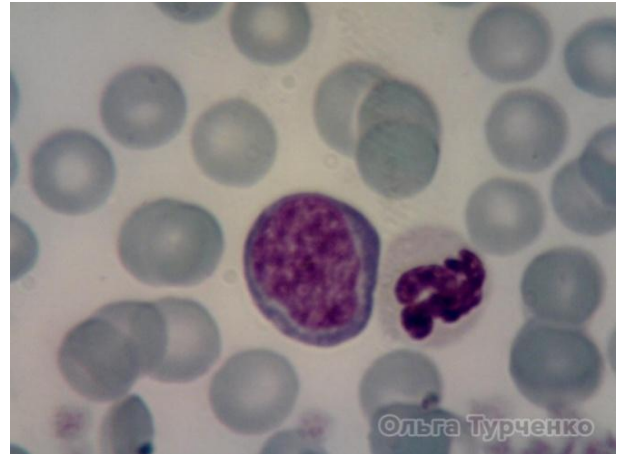
Примітка. *П - паличкодерні нейтрофіли; *С – сегментоядерні нейтрофіли; *Е – еозинофіли; *М – моноцити; *Б – базофіли; *Л – лімфоцити.

Аналізуючи дані таблиці 1 видно, що лейкограма крові цуценят дослідної і контрольної груп істотно змінилася в порівнянні її показників за перше і друге дослідження крові. В мазках крові цуценят до проведення дегельмінтизації, лікувальних обробок і вакцинації клітини крові мали певні морфологічні зміни (рис. 1, А-Г). Так, гранулоцити були вакуолізованими - гранули, що знаходились в них, розчинилися та утворили вакуолі, що

можна інтерпретувати як явище інтоксикації та реакцію лейкоцитів на гельмінтоз та запалення, що також проявлялося у тварин і клінічно (рис. 2, А-Е). Еритроцити були блідими і деформованими, що спостерігається при зниженому рівні гемоглобіну, гіпоксії крові, явищах інтоксикації. Кількісно в полі зору переважали нейтрофіли, еозинофіли, кров'яні пластинки (тромбоцити) у кількості, що перевищувала норму (рис.1, А-Г і рис. 2, А-Е).



А. Еозинофіл



В. Великий лімфоцит (зліва) та нейтрофіл

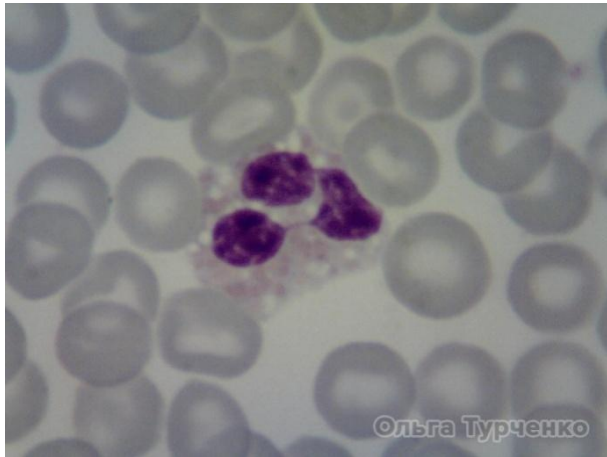


Б. Лімфоцити та тромбоцити

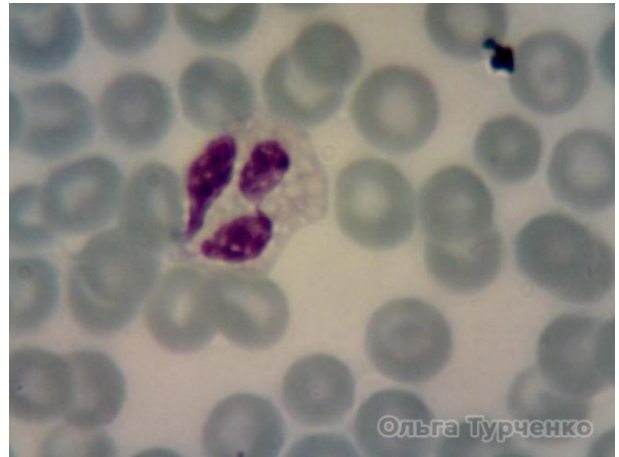


Г. Моноцит з псевдоподіями

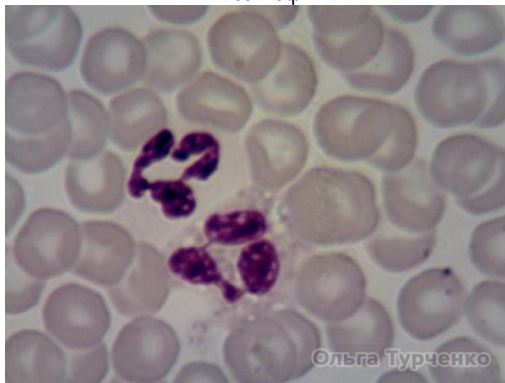
Рис. 1 (А-Г). Морфологічна картина клітин крові цуценят до проведення лікувально-оздоровчих заходів (клітини крові цуценя під №1).



А. Еозинофіл



Г. Еозинофіл



Б. Нейтрофіл (зверху) та еозинофіл



Д. Великий лімфоцит

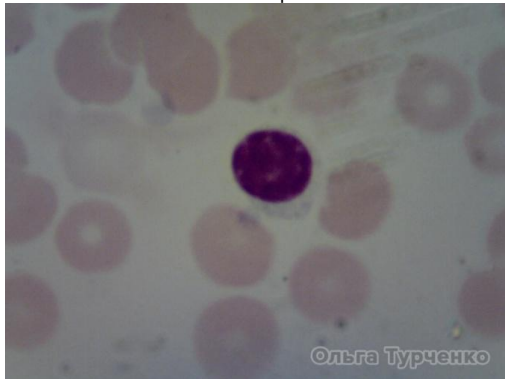


Е. Тромбоцити

Рис. 2 (А-Е). Морфологічна картина клітин крові цуценят до проведення лікувально-оздоровчих заходів (клітини крові цуценя під №10).



А. Базофіл



Б. Малий лімфоцит



В. Два нейтрофіла (зліва) та базофіл



Г. Моноцит



Д. Нейтрофіл



Е. Два нейтрофіла

Рис. 3 (А-Е). Морфологічна картина клітин крові цуценят після проведення лікувально-оздоровчих заходів (клітини крові цуценя під №1).

Після проведення лікувально-оздоровчих заходів картина крові тварин істотно змінилася. Кількість еозинофілів та нейтрофілів значно зменшилась як в дослідній, так і в контрольній групах, в той час як кількість лімфоцитів та базофілів, навпаки, зросла, що демонструє реакцію імунної системи на вакцинацію. Кількісно в полі зору переважали лімфоцити. Кількість кров'яних пластинок зменшилася, інтенсивність забарвлення еритроцитів стала значно вищою (рис. 3, А-Е), що наочно демонструє позитивний відгук організму на проведене лікування.

Після оздоровлення цуценят були дворазово щеплені полівалентною вакциною Biosan DHPPi+Lepto. Для ревакцинації цуценят застосовувалася вакцина Biosan DHPPi + Lepto + Rabies.

Висновки. 1. Показники крові піддослідних цуценят (морфологія клітин крові, їх кількісний та якісний склад, кольоровий показник) суттєво відрізнялися між собою до проведення терапевтичних заходів і вакцинації, та після них.

Картина крові собак за вищеперерахованими показниками повністю змінилася після застосування тваринам лікувально-оздоровчих заходів та щеплення.

2. Для якісного проведення вакцинації собак і підвищення її ефективності необхідно попередньо робити комплексну оцінку стану здоров'я тварин, використовуючи гематологічні дослідження та методи лабораторної діагностики. Тонкі мазки крові, приготовані за методикою Романовського-Гімзе, є простим і доступним для будь-якого клініциста методом моніторингу стану кровотворної системи собак в перивакцинальний період.

3. Важливо застосовувати необхідну лікувальну, імуностимулюючу (наприклад, вітчизняний препарат «Мікростимулін») і загальнозміцнюючу терапію тваринам, якщо їх клінічні показники не відповідають вимогам до проведення вакцинації.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження плануються проводитись у напрямку вивчення

асоційованого перебігу лептоспірозу з бабезіозом у попередньо вакцинованих і не вакцинованих собак, та клітинного складу їх крові.

Подяка. This research was supported by the project «Enhancement of Capacity Building Process in Quality of Education and Research at SNAU and SSU» funded by Development Cooperation of the Czech Republic.

Список використаної літератури:

- 1.Хайтов Р. М. Иммунология. Учебник. – 3-е изд., переработ. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 514 с.
- 2.Adamus C., Buggin-Daubie M., Izembart A. Chronic hepatitis associated with leptospiral infection in vaccinated beagles. *Journal of Comparative Pathology*. 2012. Vol. 117. P. 311-328.
- 3.Barr S. C., McDonough P. L., Scipioni-Ball R. L. Serologic responses of dogs given a commercial vaccine against *Leptospira interrogans* serovar pomona and *Leptospira kirschneri* serovar grippotyphosa. *American Journal of Veterinary Research*. 2005. Vol. 66. P. 1780-1784.
- 4.Buchwald U. K., Pirofski L. Immune therapy for infectious diseases at the dawn of the 21st century: The past, present and future role of antibody therapy, therapeutic vaccination and biological response modifiers. *Curr. Pharm. Des.* 2003. Vol. 9. P. 945-968.
- 5.Thrall M. A., Weiser G., Allison R. W., Campbell T. W. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*, 2nd edition. Wiley-Blackwell Publishing. 2012. Vol. 2. P. 15-776.

References:

- 1.Khaitov R. M. *Immunology*. Textbook. - 3rd ed., Revised. and add. M.: GEOTAR-Media, 2018, 514 p. (in Russian)
- 2.Adamus C., Buggin-Daubie M., Izembart A. Chronic hepatitis associated with leptospiral infection in vaccinated beagles, *Journal of Comparative Pathology*, 2012, vol. 117, pp. 311-328.
- 3.Barr S. C., McDonough P. L., Scipioni-Ball R. L. Serologic responses of dogs given a commercial vaccine against *Leptospira interrogans* serovar pomona and *Leptospira kirschneri* serovar grippotyphosa, *American Journal of Veterinary Research*, 2005, vol. 66, pp. 1780-1784.
- 4.Buchwald U. K., Pirofski L. Immune therapy for infectious diseases at the dawn of the 21st century: The past, present and future role of antibody therapy, therapeutic vaccination and biological response modifiers, *Curr. Pharm. Des.*, 2003, vol. 9, pp. 945-968.
- 5.Thrall M. A., Weiser G., Allison R. W., Campbell T. W. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*, 2nd edition, Wiley-Blackwell Publishing, 2012, vol. 2, pp. 15-776.

Турченко О. Н. Влияние иммуностимуляции в комплексе оздоровительной терапии на показатели морфологической картины крови собак до и после вакцинации против лептоспироза.

В ходе проведенного исследования были изучены особенности морфологической картины крови собак перед вакцинацией против лептоспироза и после нее в обычных условиях, а также с применением в период превакцинальной подготовки иммуностимулятора «Микростимулин» в ряду других терапевтических мероприятий. В статье приведены данные показателей морфологической картины крови собак, которые свидетельствуют о том, что применение комплекса лечебно-оздоровительных мероприятий с использованием иммуностимулятора «Микростимулин» на стадии подготовки животных к вакцинации против лептоспироза является существенным фактором обеспечения эффективности вакцинации, а, следовательно, создает потенциальный регресс динамики заболеваемости животных и людей лептоспирозом.

Ключевые слова: вакцинация, лептоспироз, мазки крови, форменные элементы, собаки.

Turchenko O. N. Effect of immunostimulation in health care treatment on the indicators of the morphological blood picture of dogs before and after vaccination against leptospirosis.

In the course of the study, the peculiarities of the morphological picture of dogs' blood were studied before and after vaccination against leptospirosis under normal conditions, as well as using the immunostimulant «Microstimulin» during the pre-vaccination preparation in a number of other therapeutic measures. The article presents data on the indicators of the morphological blood picture of dogs, which indicate that the use of a complex of medical and recreational measures using the immunostimulant «Microstimulin» at the stage of preparing animals for vaccination against leptospirosis is a significant factor in ensuring the effectiveness of vaccination, and, consequently, creates a potential regression the dynamics of the incidence of animals and humans leptospirosis.

Keywords: vaccination, leptospirosis, blood smears, formed elements, dogs.