

**ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА**

УДК 619:615.33+619:616-07

**ДЕЙСТВИЕ ДИАЛЬДЕРОНА НА НЕКОТОРЫЕ  
ФАКТОРЫ ИММУНИТЕТА ТЕЛЯТ ПРИ ПСЕВДОМОНОЗЕ****М. А. АЗЯМОВ, Т. В. АГАЛАКОВА**ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока,  
г. Киров, Россия, e-mail: [agalakovatv@mail.ru](mailto:agalakovatv@mail.ru)

(Поступила в редакцию 30.03.2018)

В статье представлены материалы исследований по изучению действия нового комплексного иммунокорректирующего препарата дьяльдерон на некоторые неспецифические факторы иммунитета у телят при псевдомонозе. Псевдомоноз – довольно распространенное инфекционное заболевание многих видов насекомых, рыб, птиц, животных и человека. Псевдомоноз вызывается *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойной палочкой) и проявляется у молодняка сельскохозяйственных животных в виде бронхитов, пневмоний, артритов и энтеритов. Учитывая устойчивость возбудителя к антибиотикам и химическим дезинфектантам, псевдомоноз сложно купировать и полностью элиминировать возбудителя в организме. Исследования выполнялись сотрудниками лаборатории ветеринарной иммунологии ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого (г. Киров), в ОАО «Гарский» Оричевского района Кировской области на телятах в возрасте 2–2,5 месяцев, больных псевдомонозом. Животные были разделены на 3 группы по 20 голов, по принципу аналогов. В первую контрольную группу подобрали клинически здоровых животных. Телят, больных псевдомонозом, 2-й подопытной группы лечили по схеме: через день вводили антибиотик тобрамицин сульфат 0,5 мг/кг в сутки инфекционно, на следующий день – азитромицин (Азитронит) по 2,0 мл внутримышечно, в течение недели; кроме этого – тривит по 2,0 мл внутримышечно, по 450 мл 5 %-й глюкозы на физрастворе внутривенно. Телятам 3-й подопытной группы, кроме антибиотикотерапии, дополнительно вводили дьяльдерон в дозе 200 мг на голову внутримышечно один раз в сутки в течение 7 дней. Полученные результаты позволили установить, что применение дьяльдерона в течение 7 дней в дозе 200 мг на голову при псевдоманозе у телят уже на 5-е сутки купировало симптомы заболевания, на 18-е сутки нормализовало количество клеток крови и уровень маркеров воспаления и повышало выработку интерлейкинов-2, интерлейкина-4, интерлейкина-6 (с  $9,2 \pm 0,08$  до  $30,4 \pm 0,02$  пг/мл) в крови животных.

**Ключевые слова:** дьяльдерон, иммунитет, интерлейкины, псевдомоноз, телята.

The article presents results of research into the influence of a new complex immuno-correcting drug dyalderon on certain nonspecific immunity factors in calves under pseudomonosis. Pseudomonosis is a fairly common infectious disease of many species of insects, fish, birds, animals and humans. Pseudomonosis is caused by *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudomonas aeruginosa*) and is manifested in young agricultural animals in the form of bronchitis, pneumonia, arthritis and enteritis. Given the resistance of pathogen to antibiotics and chemical disinfectants, it is difficult to stop the pseudomonosis and completely eliminate the pathogen in the body. The research was carried out by the employees of the Laboratory of Veterinary Immunology of Federal state budget scientific establishment 'Federal Agrarian Scientific Centre of the North-East' named after N.V. Rudnitskii (Kirov), and in ОАО 'Garskii' in Orichevsk district of Kirov region on calves aged 2-2.5 months, ill with pseudomonosis. Animals were divided into 3 groups 20 heads each, according to the principle of analogues. In the first control group, clinically healthy animals were selected. The calves with pseudomonosis of the 2<sup>nd</sup> experimental group were treated according to the scheme: in a day, antibiotic tobramycin sulfate 0.5 mg / kg per day was introduced by infection, the next day – azithromycin (Azitronite) 2.0 ml intramuscularly, during a week; in addition – trivium 2.0 ml intramuscularly, 450 ml of 5% glucose in saline intravenously. The calves of the 3<sup>rd</sup> experimental group, in addition to antibiotic therapy, were additionally treated with dyalderon at a dose of 200 mg per head intramuscularly once a day during a week. The results obtained made it possible to establish that the use of dyalderon during a week at a dose of 200 mg per head for pseudomonosis in calves, as quickly as on the 5<sup>th</sup> day stopped the symptoms of the disease, on the 18<sup>th</sup> day normalized the number of blood cells and the level of markers of inflammation and increased the production of interleukins-2, interleukin-4, interleukin-6 (from  $9.2 \pm 0.08$  to  $30.4 \pm 0.02$  pg / ml) in the blood of animals.

**Key words:** dyalderon, immunity, interleukins, pseudomonosis, calves.

**Введение**

Среди всех патологий сельскохозяйственных животных, обусловленных технологией содержания, кормления и использования их, наибольший удельный вес занимают незаразные болезни молодняка. При этом на первое место по частоте, массовости и величине экономического ущерба выходят желудочно-кишечные, респираторные заболевания, болезни обмена веществ и кормовые токсикозы. Широкое распространение получили также болезни иммунной системы. Вследствие изменений в среде обитания животных, широкого применения химических веществ в сельском хозяйстве, антимикробных и биологических препаратов в животноводстве и ветеринарии значительно изменилось течение и клинико-морфологическое проявление многих болезней, а

также появились новые формы патологии. Всё чаще стали встречаться ассоциированные заболевания полиэтиологической природы.

Статистика показывает, что болезни животных, сопровождающиеся поражением органов дыхания, составляют 20–30 % от общего количества незаразных болезней и по распространённости занимают второе место. Широкое распространение болезней органов дыхания обусловлено снижением естественной резистентности животных в результате нарушения технологии содержания (длительная транспортировка, переохлаждение, сырость и загазованность помещений, большая концентрация на ограниченных площадях, способствующая воздушно – капельному способу передачи инфекции, недостаточная естественная освещённость помещений и другие факторы, ослабляющие защитные силы организма.

Псевдомоноз – довольно распространённое инфекционное заболевание многих видов насекомых, рыб, птиц, животных и человека. Псевдомоноз вызывается *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойной палочкой) и проявляется у молодняка сельскохозяйственных животных в виде бронхитов, пневмоний, артритов и энтеритов. Учитывая устойчивость возбудителя к антибиотикам и химическим дезсредствам, псевдомоноз сложно купировать и полностью элиминировать возбудителя в организме.

Многие факторы патогенности *Pseudomonas aeruginosa*, такие как лейкоцидин, нейротоксин, экзотоксин А, экзозим S, щелочная фосфатаза, подавляют синтез антител, вызывают иммунодефицитные состояния и снижают продолжительность поствакцинального иммунитета. Эластаза II и гемолизины вызывают биохимическую деградацию иммуноглобулинов А, G1, G2,  $\gamma$ -интерферонов и значительно снижают фагоцитоз и гемопоэз [1, 2].

Несмотря на значительные успехи в области специфической профилактики и терапии псевдомоноза многие исследователи склоняются к мнению, что в лечении животных при данном заболевании основная роль принадлежит неспецифическому клеточному иммунитету. Поэтому важная роль в лечении и профилактике псевдомоноза отводится цитокинотерапии [3, 4].

Известно, что лимфокины (группа цитокинов) не синтезируются клетками вне воспалительной реакции иммунного ответа. Одними из наиболее сильных индукторов синтеза цитокинов являются липополисахариды, муцин и пептидогликаны бактерий. Лимфокины не только способны стимулировать антигензависимые процессы в иммунной системе, но и оказывать плеiotропное действие на многие типы клеток-мишеней, активируя их пролиферацию и функциональную активность [5]. В частности, интерлейкин-2 не только активирует пролиферацию Т-хелперов, усиливает биосинтез гамма-интерферона и иммуноглобулинов, но и повышает цитолитическую активность НК-клеток и нормализует уровень гормона дегидроэпиандростерона в организме, улучшая элиминацию возбудителя в мочеполовой системе [6].

Интерлейкин-4 не только усиливает продукцию иммуноглобулина Е, но и резко повышает активность альвеолярных макрофагов, что чрезвычайно важно при лечении респираторных форм псевдомоноза.

При выработке интерлейкина-6, кроме усиления дифференциации В-лимфоцитов резко подавляется выработка гемолизинов и эластаз *Pseudomonas aeruginosa* (активируется гемопоэз) и усиливается завершённый фагоцитоз за счёт внутриклеточных пирогенных свойств интерлейкина-6 [7, 8].

Таким образом, определение вышеуказанных лимфокинов при цитокинотерапии от псевдомоноза имеет научный и практический интерес в ветеринарии.

Сотрудниками лаборатории ветеринарной иммунологии федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального Аграрного Научного Центра Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого был синтезирован диальдерон – новый комплексный иммунокорректирующий препарат декагидроксипролина-2деценгидроизохинолина диметиламиноэтанола альбуминат с концентрацией 100 мг на 1 мл препарата. На модели состояния иммуносупрессии у белых мышей препарат активировал клеточный иммунитет по ТН1 типу, с преобладанием субпопуляции Т-хелперов (CD<sup>4</sup>) и зрелых Т-лимфоцитов (CD<sup>3+25</sup>), стимулировал синтез  $\alpha$ -ФНО,  $\gamma$ -ИФН, ИЛ-2 и ИЛ-6. Диальдерон способствует быстрой регенерации тканей и устранению этиопатогенетических факторов (гнояного воспаления, микробных клеток и некротических детритов). Данное действие диальдерона объясняется активацией ТН1 субпопуляции лимфоцитов, которые стимулируют выработку противовоспалительных цитокинов  $\alpha$ -ФНО и  $\gamma$ -ИФН.

В связи с вышеизложенным цель наших исследований заключалась в изучении действия диальдерона на некоторые неспецифические факторы иммунитета у телят при псевдомонозе.

## Основная часть

Исследования проводили в ОАО «Гарский» Оричевского района Кировской области на телятах в возрасте 2–2,5 месяцев, больных псевдомонозом. Животные были разделены на 3 группы по 20 голов, по принципу аналогов. В первую контрольную группу подобрали клинически здоровых телят. Телят, больных псевдомонозом, 2-й подопытной группы лечили по схеме: через день вводили антибиотик тобрамицина сульфат 0,5 мг/кг в сутки инфекционно, на следующий день – азитромицин (Азитронит) по 2,0 мл внутримышечно, в течение недели; кроме этого – тривит по 2,0 мл внутримышечно, по 450 мл 5 %-й глюкозы на физрастворе внутривенно. Телятам 3-й подопытной группы, кроме антибиотикотерапии, дополнительно вводили диальдерон в дозе 200 мг на голову внутримышечно один раз в сутки в течение 7 дней.

Количество лейкоцитов, лимфоцитов, эритроцитов и уровень СОЭ определяли в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных» Россельхозакадемии (2005). [9].

Уровень интерлейкина-2, интерлейкина-4, интерлейкина-6 определяли методом иммуноферментного анализа диагностикумами «Cusabio Biotech Co» (Китай) на микропланшетниках Zenyth 340 (Anthos), CM-22 SOLOR (Беларусь).

Липоксигеназу в крови телят определяли методом ИФА «Cusabio Biotech Co» (Китай).

Действие диальдерона на организм телят исследовали по показателям крови и маркерам воспаления у телят больных псевдомонозом в возрасте 2,0–2,5 месяцев на 18 день после лечения.

Статистическую обработку данных проводили по программе «Statistica 5,0» [10].

Псевдомоноз у телят проявлялся в форме ринотрахеитов и бронхитов с сильным истечением из носовой полости, кашлем, одышкой, истощением, температура не повышалась выше 40 °С. Из истечений из носовой полости и бронхиального лаважа выделялся патогенная для белых мышей культура *Pseudomonas aeruginosa* (серотип O3 по Habs, иммунотип O7 по Fisher). Данная культура образовывала β-гемолизин, эластазу 2 и экзотоксин А.

Действие диальдерона на некоторые факторы иммунитета телят при псевдомонозе

№ п/п	Показатели иммунитета	1-е сутки			18-е сутки		
		1 контроль n-20 здоровые	2 опытная n-20 антибиотикоте- рапия	3 опытная n-20 антибиотикоте- рапия +диальдерон	1 контроль n-20 здоровые	2 опытная n-20 антибиотикоте- рапия	3 опытная n-20 антибиотикоте- рапия +диальдерон
1	Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	9,58±0,06	5,8±0,04*	5,6±0,08*	9,24±0,08	6,2±0,05*	9,64±0,05*
2	Лимфоциты, %	51,4±0,11	68,8±0,25*	69,5±0,25*	52,2±0,04	72,1±0,14*	52,2±0,24*
3	Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	7,6±0,05	3,4±0,12*	3,2±0,08*	7,5±0,04	4,6±0,05*	7,8±0,08*
4	СОЭ, мм/ч	8,0±1,2	29,4±0,08*	27,8±0,04*	8,1±0,8	18,5±0,12*	9,2±0,52*
5	Гамма-глобулины, мг/дл	56,5±0,2	21,4±0,1*	22,6±0,5*	57,2±0,4	26,4±0,2*	54,8±0,5*
6	Липоксигеназа, пг/мл	0,82±0,02	1,9±0,05*	2,1±0,01*	0,78±0,05	2,2±0,04*	0,76±0,01*
7	IL-2, пг/мл	7,8±0,11	3,6±0,05*	3,5±0,04*	7,9±0,14	3,8±0,12*	8,1±0,04*
8	IL-4, пг/мл	5,6±0,15	1,7±0,15*	1,6±0,02*	6,2±0,12	2,2±0,08*	5,4±0,18*
9	IL-6, пг/мл	28,24±0,05	9,5±0,04*	9,2±0,08*	31,25±0,08	8,9±0,11*	30,4±0,02*

\*P<0,05.

У больных животных второй и третьей группы наблюдались невысокая лейкопения, лимфоцитоз и сильное снижение эритроцитов, ввиду продукции токсинов культурами псевдомонад (табл.).

У больных телят были также повышены СОЭ (до 29,4±0,08мм/ч), маркер воспаления липоксигеназа (2,1±0,01 пг/мл). Были снижены интерлейкин-2, интерлейкин-4, интерлейкин-6 и количество γ-глобулинов в сыворотке крови.

После 7-дневного лечения животных контрольной и подопытной группы у телят купировались симптомы ринотрахеита и бронхита, не отмечали истечений из носовой полости. У телят 2-й контрольной группы сохранялась одышка и кашель, у телят подопытной группы (с применением диальдерона) одышки и кашля не наблюдали.

Через 18 суток от начала лечения животных проверили некоторые показатели клеток крови и ряд маркеров иммунитета в сыворотке крови (табл.). Антибиотикотерапия у телят 2 группы не

устраняла лимфоцитоз ( $72,1 \pm 0,14$  %), разрушения эритроцитов ( $4,6 \pm 0,05 \times 10^{12}/л$ ), не снижала воспаления (липоксигеназа  $2,2 \pm 0,4$ ) и не вызывала повышение интерлейкинов 2, 4, 6, незначительно снижала СОЭ. У животных 2 группы из истечений носовой полости и бронхиального лаважа продолжали выделять патогенные для белых мышей культуры *Pseudomonas aeruginosa*.

У животных подопытной группы, прошедших терапевтический курс антибиотикотерапии и диальдерона, отмечали отсутствие симптомов ринотрахеита и бронхита, нормализацию количества лейкоцитов, лимфоцитов и эритроцитов и снижение СОЭ с  $27,8 \pm 0,04$  до  $9,2 \pm 0,52$  мм/ч ( $P < 0,05$ ). Отмечали повышение уровня в сыворотке крови интерлейкин-2, интерлейкин-4 и интерлейкин-6 до нормальных физиологических значений здоровых животных (табл.), при чем повышение провоспалительного интерлейкина-6 не вызывало повышение маркера воспаления липоксигеназы ( $0,76 \pm 0,01$  пг/мл), что опосредовано указывало на элиминацию возбудителя. Действительно, из биоматериала от животных подопытной группы культур *Pseudomonas aeruginosa* не выделяли.

### **Заключение**

Применение диальдерона в течение 7 дней в дозе 200 мг на голову при псевдоманозе у телят уже на 5-е сутки купировало симптомы заболевания, на 18-е сутки нормализовало количество клеток крови и уровень маркеров воспаления и повышало выработку интерлейкинов-2, интерлейкина-4, интерлейкина-6 (с  $9,2 \pm 0,08$  до  $30,4 \pm 0,02$  пг/мл) в крови животных.

Полученные при исследовании данные подтверждают целесообразность применения цитокинотерапии при псевдоманозе молодняка крупного рогатого скота.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология / А. В. Лазарева [и др.] // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2015. – Том 17. – №3. – С. 170–186.
2. Kang CI, Kim SH, Kim HB, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. // Clin Infect Dis. - 2003. №37. – P. 745–751.
3. Rice L.B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: ESCAPE. // J Infect Dis. – 2008. - №197(8). P. 1079-1081.
4. Pier G.B. *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide: A major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity. // Int J Med Microbiol. – 2007. - №297(5). – P. 277–295.
5. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. // Цитокины и воспаление. – 2002. - №1. – С. 9-17.
6. Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. // Clin Microbiol Infect. – 2005. - №11(Suppl. 4). – P. 17–31.
7. Morlon-Guyot J., Mere J., Bonhoure A., Beaumelle B. Processing of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A is dispensable for cell intoxication. // Infection and immunity. – 2009 - №77(7). – P.3090-3099.
8. Останин, А. А. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии / А. А. Останин, О. Ю. Леплина, М. А. Тихонова // Цитокины и воспаление. – 2002. - №1. – С. 38-45.
9. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных, утверждены Отделением ветеринарной медицины Россельхозакадемии. – Воронеж, 2005.
10. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.