

УДК 619:612.1:619.616.98

**Турко І.Б.**, к.б.н., доцент, **Семанюк В.І.**, к.б.н., професор,**Пелень Р.А.**, к.в.н., доцент, **Куляба О.В.**, асистент**Турко Я.І.**, лікар ветеринарної медицини**Верхоліук М.М.**, студент 4 курсу ФВМ ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького*

## ОСОБЛИВОСТІ ПРОЯВУ ТУБЕРКУЛІЗАЦІЇ ТА ІМУНОРЕАКТИВНІСТЬ ЗА АСОЦІАЦІЇ МІКОБАКТЕРІОЗІВ ТА ФАСЦІОЛЬОЗУ

*Для тварин, у яких виявляли мікобактерії, встановлено інгібування гемопоетичних процесів, які прогресують за асоціації мікобактеріозів і фасціольозу. Активізування гуморальних імунних реакцій за монопатологій супроводжувалось зростанням концентрації лейкоцитів і лімфоцитів – факторів клітинного імунітету. За асоціації мікобактеріозів і фасціольозу відбувається інгібування синтезу антитіл.*

**Ключові слова:** велика рогата худоба, мікобактерії, фасціоли, імунітет, сироватка крові, білки.

**Вступ.** Гельмінти викликають в організмі тварин складні патогенетичні процеси, серед яких домінують алергічні явища, в яких беруть участь клітинні й гуморальні фактори захисту організму [3,4,5]. Алергія, як відомо, є також основою захиттєвої діагностики мікобактеріозів. Дуже часто за інвазії фасціолами спостерігаються псевдоалергічні реакції при діагностиці мікобактеріозів [1,6,7,9].

Дані факти є беззаперечним підтвердженням того, що проблема в цілому залишається невирішеною. Саме ці захворювання найбільш поширені в Україні і це є безперечною причиною необхідності вивчення питання псевдоалергічних реакцій в діагностиці туберкульозу обумовлених інвазією фасціол [2,8].

Метою роботи було вивчення гематологічних і біохімічних показників крові корів, уражених мікобактеріями і фасціолами, як моноінфекцією чи моноінвазією, так і в асоціації.

**Матеріал і методи.** Виявлення інфікованих мікобактеріями тварин здійснювали шляхом алергічного дослідження. Для постановки діагнозу на фасціольоз проводили дослідження калу, використовуючи гельмінтоовоскопічний методом послідовного промивання.

За результатами вищевказаних досліджень було сформовано 4 групи тварин:

- контрольна група, утворена здоровими коровами;

- I дослідну групу склали тварин, які негативно реагували на туберкулін та з позитивними результатами копрологічних досліджень на фасціольоз;

- II дослідна група сформована з тварин, які позитивно реагували на туберкулін та з негативними результатами копрологічних досліджень на фасціольоз;

- III дослідну групу утворювали тварин, які позитивно реагували на туберкулін та з позитивними результатами копрологічних досліджень на фасціольоз.

Матеріалом для дослідження була кров, у якій досліджували загальний білок, білкові фракції, гемоглобін, еритроцити, лейкоцити та лімфоцити.

**Результати досліджень.** Алергічними дослідженнями 170 корів було встановлено 14 позитивно реагуючих тварин (табл.1), що складає 8,2% всього поголів'я. Алергічними дослідження з використанням симультанної проби (одночасне введення ППД туберкуліну для ссавців і КАМ (комплексного алергену з атипичних мікобактерій) результат був аналогічним (14 позитивно реагуючих тварин). Отже, можна зробити висновок про циркуляцію в організмі позитивно-реагуючих тварин атипичних мікобактерій.

Таблиця 1

**Результати діагностичних досліджень**

Показники	Виявлення мікобактерій		Копрологічні дослідження на фасціольоз
	туберкулінізація	симультанна проба з КАМ	
Кількість досліджених тварин	170	170	170
Кількість позитивних досліджень	14	14	12
% позитивних результатів	8,2	8,2	7,1
Кількість тварин з виділенням одним патогенним чинником	8		6
%	4,7		3,5
Кількість тварин з виділеними асоціативними патогенними чинниками	6		6
%	3,5		3,5

При використанні симультанної проби, реакція на введення КАМ порівняно з ППД туберкуліном була інтенсивнішою, як через 24, так і 48 год. після введення алергену. Через 72 год. як при введенні ППД туберкуліну, так і КАМ реагувало 14 корів, що становить 8,2%.

Слід зауважити також, що реакція на ППД туберкулін проявлялася у вигляді округлої припухлості з рівними межами, щільної консистенції, з місцевим підвищенням температури, набряком, гіперемією, без болючості шкіри на місці введення алергену. Реакція організму на КАМ була

аналогічною, однак у більшості випадків проявлялася інтенсивніше та відмічалася болючість при пальпації.

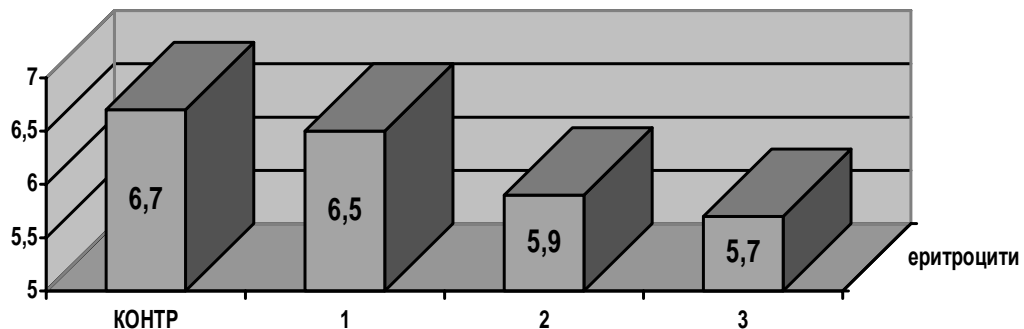
Патологоанатомічна експертиза всіх позитивно реагуючих на введення туберкуліну тварин була негативною.

Гельмінтоовоскопічним методом було досліджено усе поголів'я на наявність яєць фасціол. Позитивних проб було 12, що становило 7,1% від досліджуваних корів.

При цьому асоціацію мікобактерій і фасціол було встановлено у 6 корів, що становило 3,5% від поголів'я корів.

Вміст еритроцитів (рис.1) у крові досліджуваних корів виявився найвищим у тварин контрольної групи і становив відповідно 6,7 млн/мкл, що відповідає фізіологічній нормі. У корів II і III дослідних груп, у яких виявляли відповідно мікобактерії і фасціоли, вміст еритроцитів знижувався до 6,5 і 5,9 млн/мкл ( $p < 0,05$ ) і виявився найнижчим у корів III групи при асоціації цих чинників (5,7 млн/мкл). Слід відмітити, що зниження вмісту гемоглобіну у корів I і II дослідних груп мало тенденційний характер ( $p < 0,05$ ).

Рис.1 Рівень еритроцитів крові за мікобактеріозів і фасціольозу (млн/мкл)



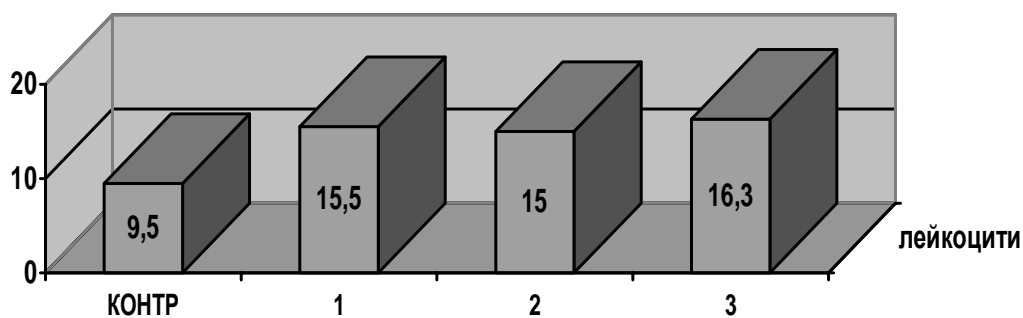
Поряд із вказаними змінами нами встановлено особливості в кількості лейкоцитів, які були протилежними (рис.2). Так, найвищий вміст лейкоцитів встановлено у тварин III групи –  $16,3 \pm 0,8$  тис/мкл ( $p < 0,01$ ), дещо нижчим він був у корів I і II дослідної групи –  $15,5 \pm 0,6$  та  $15,0 \pm 0,7$  тис/мкл ( $p < 0,02$ ).

Зростання кількості лейкоцитів на 55-58% у тварин I і II дослідних груп, порівняно з контролем, на 48% обумовлювався змінами за рахунок лімфоцитів.

Асоціація мікобактеріозу і фасціольозу тварин III дослідної групи супроводжувалася подальшим вірогідним зростанням рівня лімфоцитів як відносно контрольної групи корів, так і I та II дослідних груп ( $p < 0,01$ ).

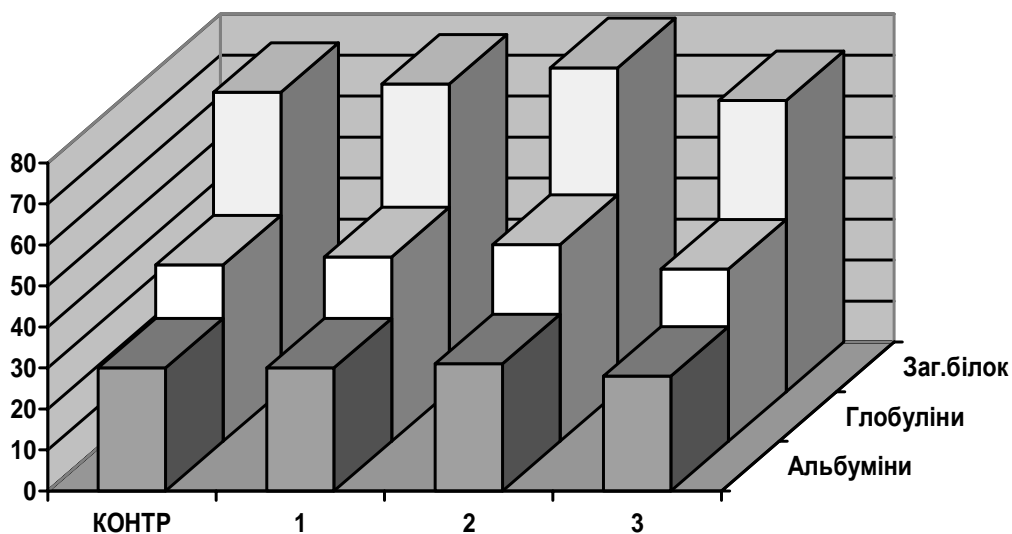
Отже, в результаті проведеного гематологічного дослідження встановлено, що у корів за мікобактеріозу і фасціольозу спостерігається тенденція до зниження кількості еритроцитів та гемоглобіну у крові ( $p < 0,05$ ) з одночасним вірогідним зростанням вмісту лейкоцитів і, зокрема лімфоцитів ( $p < 0,01$ ), при цьому більш суттєві зміни встановлені при асоціації цих хвороб.

**Рис.2** Вміст лейкоцитів крові за мікобактеріозів і фасціольозу (тис/мкл)



Значні зміни нами встановлені і у білковому спектрі сироватки крові досліджуваних тварин (рис. 3-4). Перш за все, відмічено вірогідне ( $p < 0,01$ ) зростання вмісту загального білка з 73,2 г/л у тварин контрольної групи до 75,2 г/л і 79,3 г/л у корів I та II дослідних груп (рис.5), що вказує на прискорення біосинтетичних процесів, обумовлених, очевидно, синтезом антитіл. При цьому у тварин, де спостерігався мікобактеріоз, зміни були більш суттєвими. Проте, при асоціації хвороб (III дослідна група) спостерігається різке зниження рівня білка у крові, порівняно з коровами I і II дослідної групи, яке виявилось на 7% нижчим ніж у корів контрольної групи.

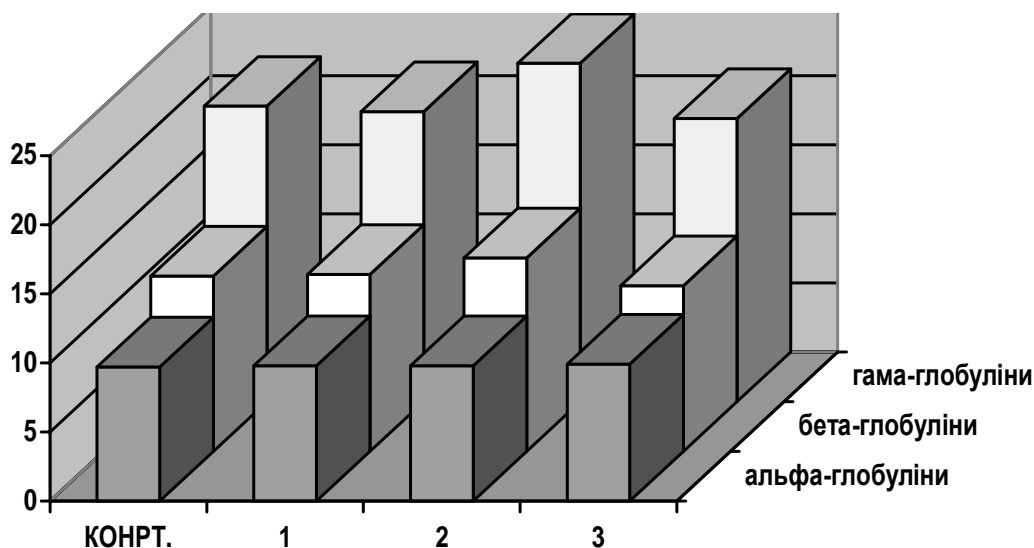
**Рис.3** Вміст загального білку, альбумінів і глобулінів сироватки крові (г/л)



Під час аналізу співвідношення альбумінів та глобулінів (рис.5), стає очевидним те, що зміни вмісту загального білка відбуваються, в основному, за рахунок глобулінової фракції, при цьому рівень альбумінів, які виконують функцію резервного пластичного білка суттєво не змінюється, хоча прослідковується тенденція до їх зниження при асоціації хвороб.

Співвідношення глобулінових фракцій, а саме результат зонального горизонтального електрофорезу в агаровому гелі (рис.6) вказує на те, що основна частка у змінах вмісту глобулінів належить гамма- та бета-глобуліновій фракції. Детальний аналіз змін вказує на те, що у корів, при наявності фасціол, вміст гамма-глобулінів (I дослідна група) суттєво не змінювався, але зростав у тварин при мікобактеріозах (II дослідна група) на 12% ( $p < 0,001$ ) і становив  $24,5 \pm 0,3$  г/л, що ймовірно відбувається за рахунок імуногенної частини цих білків.

**Рис.6 Фракційний склад глобулінів сироватки крові (агаровий гель, г/л)**



У корів при асоціації хвороб (III дослідна група) у сироватці крові спостерігалось суттєве зниження рівня гамма-глобулінів порівняно з тваринами I та II дослідних груп - з 24,5 до 20,5 (на 26,4%), причому їх вміст виявився нижчим на 4,1% порівняно з контрольними тваринами. На нашу думку, це обумовлено блокуванням імунної системи, яка відповідальна за синтез гамма-глобулінів і, зокрема імуноглобулінів. Аналогічні зміни відбувалися з бета-глобулінами, вміст яких спочатку зростав (I і II дослідна група), а далі спадав. Враховуючи, що до складу бета-глобулінів входить фактор неспецифічного імунітету – комплемент, разом із зменшенням синтезу імуноглобулінів, очевидно, є результатом сильного антигенного навантаження як мікобактерій, так і фасціол.

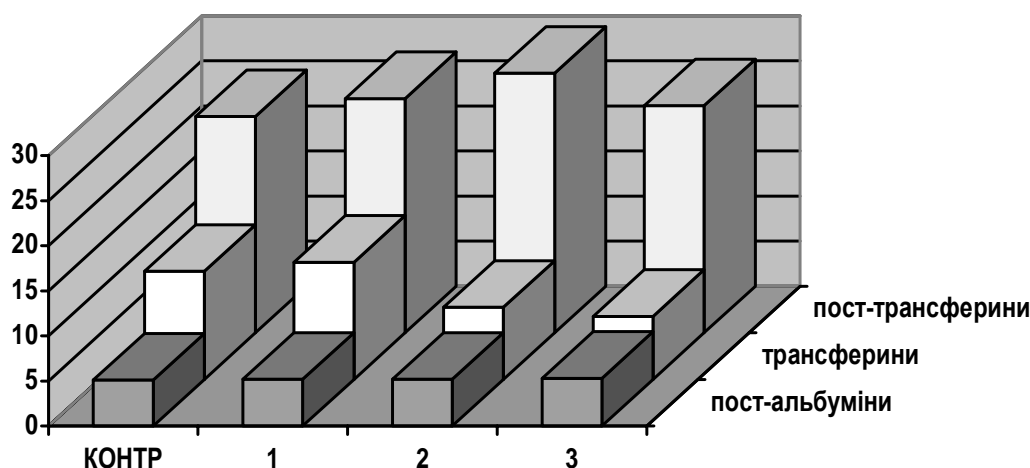
Отже, зростання вмісту загального білка сироватки крові корів при моноінфекції та моноінвазії відбувається, в основному, за рахунок бета- та гамма-глобулінів. Зниження білоксинтезуючої здатності організму при асоціації хвороб корелює із зменшенням вмісту бета- та гамма-глобулінів сироватки крові, які безпосередньо відповідають за імунні реакції.

Дослідження змін білкових фракцій методом електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) показано на рис.7. В результаті електрофорезу білків сироватки крові в ПААГ були виявлені такі основні фракції: пост-альбуміни, трансферини, пост-трансферини, альфа<sub>2</sub>-макроглобуліни і бета-ліпопротеїди.

Аналіз змін у фракції пост-альбумінів, альфа<sub>2</sub>-макроглобулінів і бета-ліпопротеїдів показав, що їх концентрація в сироватці крові знаходилася майже на одному рівні у всіх досліджуваних груп корів.

Дещо інші зміни встановлені у рівні білків трансферинової зони, що входять до складу бета-глобулінів. Так, у корів I дослідної групи їх вміст практично не мінявся, проте при виявленні мікобактерій (II дослідна група) встановлено його зниження на 22% ( $p < 0,01$ ), яке продовжувалось у корів III дослідної (28%). Указані зміни пояснюють зменшення кількості еритроцитів і гемоглобіну уражених корів, оскільки відомо, що трансферин виконує функцію носія іонів заліза в клітини кісткового мозку та сприяє їх всмоктуванню в шлунково-кишковому тракті, безпосередньо впливаючи на гемопоетичні процеси. Враховуючи також бактерицидну дію трансферинів, не зв'язаних із залізом, можна також пояснити дані літератури про зниження опірності організму уражених фасціолами тварин проти бактерійних інфекцій.

Рис. 7 Фракційний склад білків сироватки крові (ПААГ, г/л)



Зміни у вмісті посттрансферинів обумовлені впливом на них імуноглобулінів класу G<sub>1</sub> і G<sub>2</sub>, які привели до зростання посттрансферинової зони з  $24,0 \pm 0,2$  г/л до  $28,8 \pm 0,4$  г/л ( $p < 0,001$ ) у II дослідній групі корів та зниження до  $25,2 \pm 0,3$  у III дослідній групі. Тварини I дослідної групи характеризувались зростанням цих білків лише на 10,8%.

Отже, для тварин, при наявності мікобактерій, характерним є вірогідне зниження рівня трансферинів у сироватці крові на фоні збільшення вмісту бета-глобулінів, що прогресує при асоціації мікобактерій та фасціол та обумовлює

інгібування гемопоетичних процесів. Максимальний рівень імуноглобулінів спостерігається при мікобактеріозній інфекції, проте при асоціації цих двох хвороб іде інгібування синтезу антитіл.

#### **Висновки.**

1. При фасціольозі та мікобактеріозах спостерігається тенденція до зниження кількості еритроцитів та гемоглобіну у крові ( $p < 0,05$ ) з одночасним вірогідним зростанням вмісту лейкоцитів і, зокрема лімфоцитів ( $p < 0,01$ ), при цьому більш глибокі зміни встановлені при асоціації цих хвороб.

2. Зростання вмісту загального білка сироватки крові при фасціольозі та мікобактеріозах відбувається, в основному, за рахунок бета- та гамма-глобулінів. Зниження білоксинтезуючої здатності організму корів при асоціації цих хвороб корелює із зменшенням вмісту бета- та гамма-глобулінів сироватки крові – відповідальних за імунні реакції.

3. Для тварин, у яких виявляли мікобактерії, характерним є вірогідне зниження рівня трансферинів у сироватці крові на фоні збільшення вмісту бета-глобулінів, що прогресує при асоціації мікобактеріозу і фасціольозу та обумовлює інгібування гемопоетичних процесів.

4. Максимальний рівень імуноглобулінів спостерігається при мікобактеріозах, проте при асоціації мікобактеріозу і фасціольозу відбувається інгібування синтезу антитіл.

5. Активізування гуморальних імунних реакцій у інфікованих тварин супроводжувалось зростанням концентрації лейкоцитів та лімфоцитів – факторів клітинного імунітету.

#### **Література**

1. Вейсфейлер Ю.К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулеза и атипичных микобактерий. - Будапешт. - 2006. - 327 с.

2. Бусол В.О., Ситнік В.А., Шевчук В.М. До питання сприйнятливості великої рогатої худоби до *M. tuberculosis*// Міжнародна науково-практична конференція "Епізоотологія і профілактика інфекційних хвороб великої рогатої худоби" (14-17 березня 2006 р., НАУ, Київ). – К.: Видавничий центр НАУ, 2006. – С. 16.

3. Гельмінтологічні дослідження в системі екологічних заходів профілактики паразитозів-зоонозів/ І.С. Дахно, Г.П. Дахно, А.Б. Бородай, К.П. Шкурка, Г.К. Семенов, О.В. Кручиненко, О.С. Клименко// Вісник Сумського НАУ. – Суми, 2005. – № 1-2(13-14). – С. 152–158.

4. Кручиненко О.В. Епізоотологічні особливості фасціольозної інвазії жуйних// Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. — 2007. – №71/101 – С. 324–327.

5. Фасціольоз великої рогатої худоби в центральній частині України (діагностика та заходи боротьби) : Рекомендації // О.В. Кручиненко, Г.П. Дахно, О.А. Власенко, П.В. Семущин – Суми, Козацький вал, 2008. – 15с.

6. Фещенко Ю. І., Мельник В. М. Сучасні методи діагностики, лікування і профілактики туберкульозу. – К.: Здоров'я, 2002. – 904 с.

7. Яценко Т.Н., Мечева І.С. Руководство по лабораторным

исследованиям по туберкулезу. - М.: Медицина, 2003. - 260 с.

8. Boutard C., Bomery M, Argente G. Comparasion de La detection des foyery de fasciolose par test Elisa sur loctoserde um et serum et por copioscopie //Ann. Redi. veter. - 1995. - №16. -P. 363 - 368.

9. Thoen C.O. Karison A. G., Himes E.M. Mycobacterial infections in animals.// Rev. Infect. Dis. –1999, V.3. – P.360-372.

**Summary**

**Turko I.B., Kulyaba O.V., Semanyuk V.I, Pelenyo R.A.**

*Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z.Gzhytskyj, Lviv, Ukraine*

**THE PECULIARITIES OF TUBERCULINIZATIONAL MANIFESTATION AND IMMUNOREACTIVITY AT MYCOBACTERIOSIS ASSOCIATION AND FASCIOSIS**

*In animals organism in which atypic mycobacteria were discovered, it was found out the inhibition of hemopoetic processes, that are progressed at mycobacteriosis association and fasciolosis. The activization of humoral immune reaction by monopathologies were accompanied with increased concentration of leucocytes and lymphocytes, one of the factors of cell immunity. Because of association mycobacteriosis and fasciolosis, the inhibition of antibodies synthesis is taken place.*

Рецензент – к.вет.н., доцент Олексюк І.І.