

СТИМУЛЯЦИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ ОРГАНИЗМА КОШЕК ПРЕПАРАТОМ ФОРВЕТ ПРИ МИКРОСПОРИИ

*Н. А. Масимов, В. Н. Байматов, Э. Н. Масимов,
М. Д. Гимченко, Е. В. Хромова*

*ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия
ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина»*

В статье приведены данные о действии Форвета на гематологические и иммунологические показатели крови кошек, больных микроспорией, и оценена эффективность данного препарата в комплексной терапии животных.

Ключевые слова: лейкоциты, эритроциты, иммуноглобулины, форвет, микроспория, клотримазол, низорал, гризеофульвин.

Введение

По данным многих исследователей, в настоящее время более 25% случаев обращения владельцев кошек к ветеринарным специалистам связано с заболеваниями кожного покрова [2–4, 6]. Кожу следует рассматривать не только как механический, но и как иммунный барьер организма. В эпидермисе отсутствуют В-лимфоциты и низка активность киллеров, но присутствует несколько разновидностей Т-лимфоцитов [1, 5]. Эпителиальные клетки представлены кератиноцитами, имеются стволовые эпидермальные клетки, клетки Лангерганса. Кератиноциты продуцируют цитокины, ряд ростовых факторов, которые обеспечивают процессы клеточного размножения, созревания и регенерации эпидермиса. При повреждении эпидермиса клетки выделяют цитокины, действующие на кератиноциты [5]. В дерме обнаруживают макрофаги, тучные клетки, которые, выделяя медиаторы, усиливают реакции воспаления. Такое инфекционное заболевание кожи, как микроспория, представляет интерес для выявления защитных механизмов организма. Важная роль отводится клеточно-опосредованному иммунитету, что имеет значение в лечении кошек при микроспории. У кошек, в зависимости от места и среды обитания, данная болезнь встречается в 3..4 раза чаще, чем у собак [5, 6].

Форвет содержит в качестве активной субстанции высокомолекулярный полисахаридный комплекс, получаемый

путем обработки ростков клубней картофеля. Попадая в организм, полисахариды активируют клеточный иммунитет, оказывают общеукрепляющее действие, способствуют индукции интерферона [7, 8].

Целью настоящей работы являлось изучение лечебных свойств форвета при микроспории кошек и его влияния на специфические и неспецифические показатели крови. Для реализации цели были поставлены следующие задачи.

1. Определить параметры некоторых специфических и неспецифических защитных механизмов организма кошек, больных микроспорией.
2. Выявить влияние форвета на защитные механизмы организма кошек, больных микроспорией, и определить его терапевтическую эффективность.

Материалы и методы

В ООО «Зооветцентр Лебеди», г. Москвы было выявлено 24 кошки в возрасте от 4 мес до 2 лет (пород британская, шотландская, персидская и беспородные животные), пораженные микроспорией. Клинически болезнь проявлялась поражением кожи в виде округлых пятен алопеции и чешуек, утолщения и уплотнения кожи. Зуд у всех кошек отсутствовал. Диагноз на микроспорию подтверждали лабораторными методами. Животные были разделены на 3 группы по 8 голов в каждой. Животных 1-й группы лечили с использованием геля клотримазол, шампуня низорал и таблеток гризеофульвин в соответствии с наставлением по их применению;

2-й группы – клотримазолом и низоралом; 3-й группы – клотримазолом, низоралом, гризеофульвином и препаратом форвет в дозе 1 мл на 10 кг массы тела. Во всех группах лечебные процедуры повторялись через 7 сут в течение 3 нед.

У всех кошек до и после опыта брали кровь для гематологических и иммунологических исследований. Число эритроцитов и содержание гемоглобина определяли фотоэритрогемометром модели 065; число лейкоцитов – в камере Горяева; СОЭ, гематокрит, цветовой показатель и ретракцию – по общепринятым методикам (Лютинский С. И., Степин В. С., 1987); лейкограмму, фагоцитарное число – на мазках крови, окрашенных по Романовскому; количество иммуноглобулинов – фотометрированием. При определении бактерицидной активности суточную культуру *Escherichia coli* инкубировали с сывороткой крови в течение 2 ч 15 мин, 24, 48 и 100 ч по О. В. Смирновой и Т. А. Кузьминой (1966). С этой целью в пробирки с 4,5 мл стерильного бульона или бульона Хоттингера добавляли по 1 мл испытуемой сыворотки, затем стерильной пипеткой вносили по 0,1 мл суточной бульонной культуры *E. coli*. Контролем служили пробирки с бульоном и культурой, но без сыворотки. Содержимое пробирок тщательно перемешивали и стерильной пипеткой от каждой пробы отбирали по 2 мл для измерения оптической плотности. Измерения проводили в кюветах толщиной 3,050 мм при зеленом светофильтре против дистиллированной воды. Пробирки с оставшимся содержимым (МПБ + сыворотка + культура микроба) закрывали пробками и помещали в термостат при 37 °С на 2 ч 15 мин, 3, 24, 48 и 100 ч. Затем вновь определяли оптическую плотность, т.е. находили D_{2} . Бактерицидную активность исследуемой сыворотки выражали в процентах, вычисляя по формуле. Лизоцимную активность сыворотки крови устанавливали по В. Г. Дорофейчуку (1983).

В качестве индикатора активности лизоцима применяли суточную культуру *Micrococcus lysodecticus*, выращенную на МПА по общепринятой методике. Из суточной тест-культуры *M. lysodecticus* на скошенном агаре готовили взвесь в фосфатном буфере (рН 7,2...7,4). Чтобы получить равномерную взвесь, ее фильтровали через слой ваты. Взвесь стандартизировали на ФЭК-Н с зеленым светофильтром в кюветах толщиной 3,050 мм. Для определения активности лизоцима в обычные микробиологические пробирки наливали 1,47 мл приготовленной на ФЭК-Н взвеси *M. lysodecticus* и добавляли 0,03 мл цельной сыворотки. Активность лизоцима в сыворотке устанавливали при разведении ее бактериальной взвесью в 50 раз. Пробирки встряхивали и помещали в термостат при температуре 37 °С на 1 ч. После этого их снова встряхивали и нефелометрировали при тех же условиях, которые соблюдались при стандартизации исходной взвеси. Показания регистрировали по шкале светопропускания правого барабана ФЭК-Н. Активность лизоцима определяли по светопропусканию исходной взвеси (20%), которую вычитали из аналогичного показания испытуемой взвеси (%). Рассчитывали количество (%) лизированных микробных тел по формуле. Полученные результаты сравнивали с нормативами. Экспериментальные данные обрабатывали методом вариационной статистики (Плохинский Н. А., 1969) с использованием ПК Pentium. Определяли следующие величины: средняя арифметическая (M), ошибка средней арифметической ($\pm m$), критерий достоверности разницы (td), уровень значимости возможной ошибки (P) по трем порогам вероятности: * $P=0,95$; ** $P=0,99$; *** $P=0,999$. Результаты исследований, уровень вероятности которых не превышал 0,05, считали статистически достоверными (Ойвин И. А., 1960; Рокицкий П. Ф., 1961; Плохинский Н. А., 1969).

Результаты исследований

У всех кошек показатели крови при микроспории отличались от физиологической нормы (табл. 1).

Были выявлены лейкоцитоз, сдвиг лейкограммы вправо. При изучении неспецифических факторов защиты крови у кошек установлено, что наиболее благоприятное влияние на эти показатели оказало лечение, примененное в 3-й группе, при этом гуморальные факторы естественной защиты, такие как бактерицидная и лизоцимная активность, повышались. Одним из компонентов, обуславливающих бактерицидное действие сыворотки крови, является комплемент. Свое влияние во всех иммунных процессах организма он проявляет как катализатор, повышая скорость течения иммунологических реакций и активируя полиморфноядерные лейкоциты, повышая их способность проникать к месту воспаления и оказывать защитное действие. Высокая бактерицидная активность крови, способная задерживать рост микроорганизмов многих видов, обуславливается содержащимися в ней лизоцимом, комплементом, пропердином, интерфероном, а также присутствием так называемых бактериолизиннов, способных растворять бактериальные клетки. Кроме антибактериального действия лизоцим стимулирует естественную резистентность организма. При анализе данных отмечены различия по группам в клинических, гематологических и иммунологических показателях (табл. 1 и 2).

Препарат форвет в составе комплексной терапии сокращает сроки выздоровления кошек, больных микроспорией. Это связано, вероятно, с увеличением уровня иммуноглобулинов. Через 7 сут после начала лечения был проведен контрольный осмотр животных, проходивших лечение. У животных 1-й группы имелись пораженные участки без чешуек, кожа естественного цвета, а зоны алопеции диаметром до 0,5 см покрылись шерстью. В крови незначительно повысилась содержание Ig A, Ig M но уменьшился уровень Ig G. Во 2-й группе лишь у двух животных отмечены признаки клинических улучшений. В крови кошек достоверно повышалось содержание Ig A и незначительно Ig M и Ig G. У трех кошек появились новые очаги поражений. У животных 3-й группы наблюдали улучшение: на 60...70% поверхности участков алопеций появился шерстный покров, полностью отсутствовали чешуйчатые изменения. В крови достоверно увеличилось уровень Ig A, бактерицидная активность, фагоцитарное число, наметилась тенденция к повышению уровней Ig M и Ig G. При лабораторном исследовании шерсти больных животных в 1-й группе микроспория подтвердилась в двух случаях, во 2-й группе – в шести, а в 3-й результаты исследования оказались отрицательными.

Таблица 1

Результаты гематологических исследований у кошек, больных микроспорией

Показатель	Ед. измерения	Норма для кошек	Группа животных		
			1-я	2-я	3-я
СОЭ	Мм/ч	0...13	20±2	18±3	19±2
Эритроциты	10 ¹² / л	6,6 ...9,4	9,4±1,2	8,9±1,5	9,3±1,1
Лейкоциты	10 ⁹ / л	5,5 ...19,5	19,3±2,5	22,5±3,3	24,7±1,3
Эозинофилы	%	2 ...12	5,12±0,24	4,98±0,35	5,10±1,06
Базофилы	%	0 ...1	0	0	0
Палочкоядерные нейтрофилы	%	0 ...3	10,5±1,3	10,2±1,4	11,5±1,2
Сегментоядерные нейтрофилы	%	35 ...75	60,4±5,21	61,8±7,14	59,3±4,29
Лимфоциты	%	20 ...55	23,3±2,13	22,7±1,96	23,4±2,3
Моноциты	%	1...4	1,02±0,03	1,10±0,02	1,24±0,03

Результаты иммунологических исследований кошек, больных микроспорией

Показатель	Ед. измерения	Норма для кошек	Группа животных					
			1-я		2-я		3-я	
			до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Ig A	г/л	2,06-6,59	1,20±0,5	1,40±0,3	1,6±0,12	3,1±2,12 ***	1,4±0,15	2,0±0,1**
Ig M	г/л	0,66-1,95	1,50±0,3	1,8±0,12	0,6±0,01	0,68±0,02	0,47±0,02	0,50±0,01
Ig G	г/л	5,8-1,4	4,70±0,6	4,3±0,14	6,1±0,14	6,3±0,5	6,0±0,12	6,1±0,5
Лизоцимная активность	%	12-0,98	12,1±0,6	12,3±0,3	12,4±1,2	12,46±1,0	12,6±0,13	12,43±1,0
Бактерицидная активность	% лизиса <i>E. coli</i>	69-0,57	69,4±0,3	68,0±1,2	70,3±0,6	71,2±0,16	68,9±0,8	76,7±1,4*
Циркулирующие иммунные комплексы	у.е	20,1-1,3	20,0±1,2	21,0±0,13	19,8±2,4	20,1±0,12	19,4±0,4	19,7±1,1
Фагоцитарная активность	%	25-2,9	26,2±3,14	26,0±1,3	27,1±0,8	27,2±1,2	27,6±0,12	27,8±1,3
Фагоцитарное число	у.е	2,2-1	2,5±0,6	2,4±1,6	2,8±0,4	2,9±0,1	2,8±0,2	3,4±0,45*

Третий осмотр больных животных провели на 28-е сутки лечения. В результате в 1-й и 3-й группах споры *Microsporium canis* не были обнаружены, а во 2-й группе микроспория подтвердилась у четырех животных.

Учитывая литературные данные и результаты собственных исследований нами сделан вывод о влиянии форвета на специфические и неспецифические защитные механизмы организма, направленные на восстановление структуры и функции поврежденных органов и тканей.

Выводы

1. Микроспория у кошек протекает с классическими симптомами. В то же время существенных изменений в поведение животных нами не выявлено.
2. Введение форвета при комбинированном лечении микроспории приводит к регрессии патологического состояния в течение 14...20 сут. Характерными особенностями фармакологического спектра препарата является повышение жизнеспособности клеток кожи в присутствии микроспор. В крови активируются лейкоциты и повышается уровень иммуноглобулинов что, по-видимому, оказывает иммуномодулирующее действие и блокирует размножение микроспор. Это позволяет использовать препарат в терапии инфекционных болезней.
3. Форвет – оригинальный отечественный ветеринарный препарат растительного

происхождения, не имеющий аналогов в России и за рубежом. Он получен путем обработки побегов растения *Solanum tuberosum* (картофель) и представляет собой высокомолекулярный полисахаридный комплекс, состоящий из рамнозы, арабинозы, глюкозы, галактозы, ксилозы, маннозы, уроновых кислот. Форвет в дозе 1 мл на 10 кг массы животного в течение 7 сут оказывает лечебное действие при микроспории кошек, обладает иммуномодулирующим, цитопротективным свойствами, влияет на регенерацию кожи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кирк Р., Бонагура Д. Современный курс ветеринарной медицины Кирка – М.: Аквариум, 2005.
2. Левятова Н. И. Дерматофитозы кошек и собак: Материалы 16-го Международного конгресса по болезням мелких домашних животных, 2008.
3. Масимов Н. А., Лебедько С. И. Инфекционные болезни собак и кошек. – СПб.: Лань, 2009.
4. Масимов Н. А., Масимов Э. Н. Влияние ронколейкина на гематологические и иммуно-логические показатели собак, больных демодекозом // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2013. – № 2(10) С. 67–69.
5. Медведев К. С. Болезни кожи собак и кошек. – Киев: ВИМА, 1999.
6. Патерсон С. Кожные болезни кошек. – М.: Аквариум, 2008.
7. Рэмси Я., Теннант Б. Инфекционные болезни собак и кошек. Практическое руководство. – М.: Аквариум-Принт, 2005.
8. Старченко С. В. Болезни мелких животных. – СПб.: Лань, 1999
9. Стовбун С. В., Лепехин А. В., Ратникова Л. И. и др. Опыт применения панавира в терапии клещевого энцефалита // Инфекционные болезни. – 2007. – № 1. – Т. 5. – С. 41–46.
10. Стовбун С. В., Михайлов А. И. Тезисы / XXIII симпозиум «Современная химическая физика», Туапсе, 2011. – С. 123.