Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet8825
<http://nvlvet.com.ua>

UDC 619:612.017:616.95:636.2

Influence of cryptosporidiosis agent on biochemical and immunological parameters of blood of calves

V.V. Zhurenko, O.V. Zhurenko

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine Kyiv, Ukraine

Article info

Received 10.09.2018
Received in revised form
09.10.2018
Accepted 10.10.2018

National University of Life
and Environmental Sciences of
Ukraine, polkovnik
Potekhin Str., 16, Kyiv, 03041,
Ukraine.
Tel.: + 38-067-703-49-81.
E-mail: zhurenko-lena@ukr.net

Zhurenko, V.V., & Zhurenko, O.V. (2018). Influence of cryptosporidiosis agent on biochemical and immunological parameters of blood of calves. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 20(88), 136–140. doi: 10.32718/nvlvet8825

Cows, young cattle and calves of black-and-bark breeds, spontaneously affected by the causative agent *Cryptosporidium parvum*, were selected for the research. Blood for research was taken from calves in the morning before feeding from the jugular vein. Biochemical parameters of blood serum were determined using a biochemical analyzer of the closed type. Changes in the activity of serum enzymes in the initial stages of the disease are not specific, they indicate a compensatory reaction of liver cells and biliary tract. Effect of *Cryptosporidium* in calves body accompanied by severe disorders that affect the metabolism of proteins, carbohydrates and enzymes. These changes lead to structural changes in the organs at the cellular level. Serum infested animals significantly reduced total protein content of 25.5% ($P < 0.001$), albumin – by 14.6% ($P < 0.01$), the concentration of glucose in – 21.2% ($P < 0.01$), carotene content – 12.6% ($P < 0.05$), the level of calcium and phosphorus – 17.5 and 18% ($P < 0.05$), respectively, and increased total bilirubin content by 23% ($P < 0.001$), indicating significant violations of the protein synthesis and detoxification processes in the liver and the tension in the metabolism of their body. Reduced glucose concentration in blood serum is due to the fact that in the body of sick animals there have been increased costs for maintaining the energy needs of its own organism. In conducting studies for 35 days in animals in the experimental group noted an increase in the concentration of circulating immune complexes by 10.5% relative to control. Increasing the concentration of circulating immune complexes in serum of calves, patients with cryptosporidiosis, indicates the presence of specific interaction antigen-antibody and decrease the activity of the humoral link of the immune system. In the determination of immunosuppressive proteins – serum cords in serum of calves, it was found that at 7, 14 days their concentration was within the physiological limits. Increasing the concentration of circulating immune complexes in serum of calves, patients with cryptosporidiosis, indicates the presence of specific interaction antigen-antibody and decrease the activity of the humoral link of the immune system.

Key words: Cryptosporidiosis, calves, immunity, immunoglobulins, antibodies, glucose, invasion, total protein, calcium.

Вплив збудника криптоспоридіозу на біохімічні та імунологічні показники крові телят

В.В. Журенко, О.В. Журенко

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

Для досліджень відбирали корів, молодняк великої рогатої худоби та телят чорно-рябої породи, спонтанно уражених збудником *Cryptosporidium parvum*. Кров для досліджень відбирали у телят вранці до годівлі з яремної вени. Біохімічні показники сироватки крові визначали за допомогою біохімічного аналізатора закритого типу. Зміни активності ферментів сироватки крові на початкових стадіях захворювання не є специфічними, вони вказують на компенсаторну реакції клітин печінки та жовчовивідних шляхів. Вплив криптоспоридій на організм телят супроводжується вираженими порушеннями, які впливають на обмін білків, вуглеводів та активності ферментів. Ці зміни призводять до структурних змін органів на клітинному рівні. У сироватці крові інвазованих тварин вірогідно знижується вміст загального білка на 25,5% ($P < 0,001$), альбумінів – на 14,6% ($P < 0,01$), концентрація глюкози на – 21,2% ($P < 0,01$), вміст каротину – на 12,6% ($P < 0,05$), рівень Кальцію і Фосфору – на 17,5 і 18% ($P < 0,05$) відповідно, а також підвищується вміст загального білірубину на 23% ($P < 0,001$), що свідчить про істотні порушення білоксин-

тезуючих і дезінтоксикаційних процесів у печінці та напругу в обміні речовин їх організму. Зниження концентрації глюкози в сироватці крові пояснюється тим, що в організмі хворих тварин відбулися її посилені витрати на підтримання енергетичних потреб власного організму. При проведенні досліджень на 35 добу у тварин дослідної групи відзначали збільшення концентрації циркулюючих імунних комплексів на 10,5% відносно контролю. Підвищення концентрації циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові телят, хворих на криптоспори́діоз, свідчить про наявність специфічної взаємодії антиген-антитіло і зменшення активності гуморальної ланки імунної системи. При визначенні імуносупресивних білків – серомукоїдів у сироватці крові телят встановлено, що на 7, 14 добу їх концентрація була у фізіологічних межах.

Ключові слова: криптоспори́діоз, телята, імунітет, імуноглобуліни, антитіла, глюкоза, інвазія, загальний білок, кальцій.

Вступ

Серед вагомих причин, що стримують розвиток молодняку та новонароджених телят є паразитарні хвороби. До таких хвороб належать і кишкові протозоози. Тому важливим і актуальним залишається питання ранньої діагностики паразитарних хвороб травного каналу, зокрема і криптоспори́діозу, в молодняку тварин. Інвазійні хвороби особливо згубно діють на молодняк, затримуючи його ріст і розвиток. Вони сприяють зараженню худоби різними інфекціями, ускладнюють їх перебіг і знижують опірність організму. Криптоспори́діоз (cryptosporidiosis) – протозойна хвороба, яка характеризується ураженням кишечника в молодняку тварин і супроводжується поносом, відмовою від корму, блювотою. У телят раннього віку найчастіше реєструються захворювання з симптомом комплексом патології шлунково-кишкового тракту (Arroyo, 1996).

Хвороби шлунково-кишкового тракту телят, які проявляються діареєю, посідають перше місце в період постнатального розвитку тварин. До недавнього часу вважалося, що збудниками шлунково-кишкових хвороб молодняку є переважно бактерії (ешерихії, сальмонели) та віруси (рота-, корона- і парвовіруси), але наприкінці минулого століття підтверджено, що причиною розладу діяльності шлунково-кишкового тракту та захворювання на гастроентерит (Dubova, 2016; Zinko, 2017) в багатьох випадках можуть бути найпростіші, зокрема – криптоспори́дії. Патогенез гельмінтозних захворювань розглядається як складний комплекс взаємопов'язаних і взаємообумовлених процесів, які виникають, з одного боку, в результаті патогенетичного впливу гельмінтів, а з іншого – є реакцією-відповіддю організму господаря на проникнення паразитів. Вплив гельмінтів на організм пов'язаний з механічною, трофічною та токсичною їх діями, а також із негативним впливом на мікрофлору кишечника (Bryson et al., 2000; Grinev, 2007). Однак провідна роль у формуванні патологічного процесу належить алергії. Паразитування гельмінтів в організмі господаря супроводжується розвитком імунної відповіді із залученням у нього різноманітних клітинних і гуморальних феноменів (Wozniak et al., 1997), а також реакції гіперчутливості негайного й сповільненого типів. Імунобіологічна перебудова організму за паразитарних хвороб, будучи фактором захисту, водночас слугує основним патогенетичним фактором. Встановлено, що криптоспори́дії часто паразитують сумісно із деякими вірусами і бактеріями, а також найпростішими та гельмінтами, що призводить до ускладнення лікувально-оздоровчих заходів і підвищення рівня загибелі молодняку тварин.

Мета роботи – вивчити вплив збудника криптоспори́діозу на біохімічні та імунологічні показники крові телят.

Матеріал і методи досліджень

Для досліджень відбирали корів, молодняк великої рогатої худоби та телят чорно-рябої породи, спонтанно уражених збудником *Cryptosporidium parvum*. Кров для досліджень відбирали у телят вранці до годівлі з яремної вени із дотриманням правил асептики та антисептики (Dubova et al., 2005). Біохімічні показники сироватки крові визначали за допомогою біохімічного аналізатора закритого типу VITROS 250 (“Ortho-Clinical Diagnostics Inc.”, США). Підготовку проб і визначення конкретних показників проводили згідно з інструкціями до приладу та реактивів. Імуноглобуліни крові різних класів визначали методом радіальної імунодифузії за Манчіні в модифікації Fahey J., Kelvey E. (1965) з використанням моноспецифічних антисироваток. Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) визначали за Гриневичем Ю.А. і Алфєровою А.Н. (1981) та серомукоїдів – за Weimer H.E. і Moshin R.J. (1952). Результати досліджень обробляли згідно із загальновизнаними методами статистики з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення

Значну роль у захисті організму тварини від чужорідних антигенів відіграє гуморальна ланка імунітету, яка дає можливість дослідити патологічні процеси в організмі хворих тварин. Стан гуморального імунітету за криптоспори́діозу вивчений недостатньо, що гальмує розшифрування ролі патогенетичних механізмів у розвитку захворювання. Первинне зараження збудником криптоспори́діозу викликає в організмі тварини імунобіологічну перебудову. Розвивається стан сенсibiliзації, в результаті чого при подальшому контакті з інвазією (супер- та реінвазія) виникають характерні імунологічні реакції з боку організму. Із розвитком інвазії у тварин спостерігали пригнічення білоксинтезуючої функції печінки, про що свідчить зменшення вмісту загального білка у сироватці їх крові. Так вміст загального білка вірогідно зменшувався на 5 добу на 14% ($P < 0,05$), на 7 добу – на 22,6% ($P < 0,01$), на 14 добу – на 25,5% ($P < 0,001$) та на 30 добу – на 10% ($P < 0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи. На нашу думку, це може вказувати на недостатнє перетравлення білків та всмоктування амінокислот у кишечнику хворих тварин, що спричиняє зниження його секреторної функції. За результа-

тами досліджень відмічено зменшення вмісту альбумінів на 6,2% на 5 добу, на 8% – на 7 добу. Як відомо зменшення вмісту альбумінів у сироватці крові викликає значні зміни онкотичного тиску, що призводить до виникнення набряків. Збільшення у сироватці крові хворих тварин вмісту загального білірубину: в 2,7 раза ($5,65 \pm 0,13$ мкмоль/л, $P < 0,001$, проти показників у здорових тварин $2,07 \pm 0,18$ мкмоль/л) на 5 добу, у 2,6 раза ($5,89 \pm 0,11$ мкмоль/л, $P < 0,001$, проти показників у здорових тварин $2,20 \pm 0,15$ мкмоль/л; на 28 добу, у 2,2 раза ($5,91 \pm 0,122$ мкмоль/л, $P < 0,001$, проти показників у здорових тварин $2,65 \pm 0,19$ мкмоль/л), може свідчити про порушення жовчотворної та жовчовидільної функції печінки. Концентрація глюкози у тварин дослідних груп, протягом всього періоду проведених досліджень була низькою. Так зниження її концентрації у 1,5 раза у тварин дослідних груп відмічали на 5, 7, 21 та 28 добу досліджень при ($P < 0,01$), 14 та 30 добу – у 1,6 раза відносно тварин контрольної групи, на 35 добу вона була у 1,7 раза нижче відносно контрольної групи. Зниження концентрації глюкози в сироватці крові пояснюється тим, що в організмі хворих тварин відбулися її посилені витрати на підтримання енергетичних потреб власного організму.

Вміст каротину залишався низьким. На 5, 7, 14 та 21 добу вірогідної різниці не відмічали. У тварин на 28 добу відмічали зниження на 14,3% ($P < 0,05$), 30 добу на 12,6% ($P < 0,05$) та на 35 добу на 23,8% ($P < 0,01$) відносно контрольної групи. Зниження вмісту каротину в організмі тварин дослідної групи пояснюється поганим споживанням і засвоєнням ними кормів. Зниження у 1,4 раза холестеролу у хворих тварин спостерігали на 14, 28, 30 та 35 добу ($P < 0,05$). Це свідчить про зменшення в крові хворих тварин ліпопротеїдів.

Важливими мінеральними елементами крові є Кальцій та Фосфор. Відомо, що рівень Кальцію у крові регулюють гормони парашитоподібної (паратгормон) та щитоподібної (кальцитонін) залоз і вітамін D. Зниження Кальцію у крові (гіпокальціємія) з боку нерво-м'язової системи проявляється тетанічними судорогами, конвульсіями, зниженням артеріального тиску. Водночас гіпокальціємія і гіпофосфатемія в більшості випадків свідчить про вторинну гіперфункцію парашитоподібних залоз. Зміна діяльності цих залоз характерна за нестачі вітаміну D₃ (холекальциферолу). Провітамін D надходить з кормом або ж синтезується у тканинах шкіри за впливу ультрафіолетових променів. Потім холекальциферол (вітамін D₃) підлягає перетворенню в печінці і нирках (кальцитріол – його активна форма). Відповідно за показниками рівня кальцію у крові можна говорити про її функціональний стан, а відтак – про стан здоров'я організму тварин.

Внаслідок порушення секреторної та всмоктувальної функцій кишків, що розвиваються за криптоспоридіозу, рівень Кальцію у крові хворих телят був дещо зниженим в 1,2 раза на 28 добу. Це вказує на одну з ознак хронічного перебігу гастроентериту, а також хвороб печінки, оскільки в ній знижується синтез 25-гідроксикальциферолу, жовчних кислот і сек-

реція жовчі. Зменшення рівня Фосфору зберігалось упродовж всього періоду досліджень. Це може бути обумовлено, високою гомеостатичною стійкістю фосфорно-кальцієвого обміну та незначним впливом криптоспоридій на фосфорно-кальцієве живлення організму тварин.

АлАТ та АсАТ – це ферменти, що локалізуються у більшості органів тварин та систем. Вони переносять аміногрупи від аспарагінової кислоти (АсАТ) та аланіну (АлАТ) на альфакетоглутарову кислоту. Обидва ферменти локалізуються у цитоплазмі клітин (АсАТ також у мітохондріях) (Yaremko and Pelenio, 2016; Gutty et al., 2018). Тому при пошкодженні тканин активність цих ферментів у сироватці крові підвищується. Дослідження активності АсАТ і АлАТ використовується для діагностики уражень печінки. За криптоспоридіозу телят важливим було вивчення характеру змін ферментного спектру крові. У тварин активність АлАТ на 5 добу була підвищена у 1,5 раза. Також вірогідне підвищення активності фермента відмічали на 21 добу на 2,3%. Активність АсАТ була підвищена у телят протягом всього періоду досліджень. Так на 5, 7, 14, 21, 30 та 35 добу активність АсАТ була підвищена в 1,2, 1,3, 1,4, 1,5 та 1,3 раза відповідно контрольної групи тварин. Як відомо, ці ферменти містяться в клітинах печінки, міокарді, скелетних м'язах, легенях, нирках, підшлунковій залозі, а також в еритроцитах. Вони є досить чутливими при різних патологічних процесах в організмі, особливо при ураженні печінки. Підвищення їх активності, найімовірніше, пов'язано з розпадом певної частини еритроцитів під дією токсинів паразитів, а також із посиленням функціонування печінки та серця.

Згідно з одержаними результатами відмічали підвищення активності лужної фосфатази від 5 до 35 доби досліджень відповідно у 1,4–2,5 раза. Активність ЛДГ протягом всього періоду дослідження була підвищеною у 4 рази. Підвищення активності ГГТП у 9,6 раза ($P < 0,001$) відмічали на 7 та 21 добу досліджень; на 14 та 28 добу цей показник був збільшений у 9,5 раза порівняно з тваринами контрольної групи.

Збільшення активності ГГТП призводить до патології печінки. За результатами досліджень R.I. Sawthorne (1988) відмічено, що паразит здатний викликати сильніше порушення функції печінки як внаслідок свого механічного впливу, впливу ендо- та екзотоксинів, так і через недостатності процесу перетравлення та всмоктування білків у травній системі.

Таким чином, ушкоджуючим фактором криптоспоридіозу є його збудник з усіма напрямками ушкоджуючої дії: фізичними, хімічними та біологічними. Про результати фізичної (механічної) та хімічної дії паразитів відомо з літературних джерел. Разом з тим механізм дії та наслідки біологічного впливу збудника і, насамперед, його імунобіологічних чинників недостатньо вивчені. В організмі телят за криптоспоридіозу відбуваються зміни біохімічного складу крові, які можуть бути також свідченням виникнення запальних процесів. Підвищення активності ферментів АлАТ, ГГТП, ЛФ, зниження вмісту загального білка й альбумінів у сироватці крові телят за криптоспоридіозу можна пояснити патологічними змінами в печінці

(Belova and Altufev, 2009), а також руйнівними процесами гладенької мускулатури кишечника і порушення метаболізму білків. Значну роль у захисті організму тварини від чужорідних антигенів відіграє гуморальна ланка імунітету, яка дає можливість дослідити патологічні процеси в організмі хворих тварин. Стан гуморального імунітету у великої рогатої худоби, зокрема телят за криптоспоридіозу, вивчений недостатньо, що гальмує розшифрування ролі патогенетичних механізмів у розвитку захворювання. Первинне зараження збудником криптоспоридіозу викликає в організмі тварини імунобіологічну перебудову. Розвивається стан сенсibiliзації, в результаті чого при подальшому контакті з інвазією (супер- та реінвазія) виникають характерні імунологічні реакції з боку організму. За сильного зараження тварин паразитами знижується резистентність їх організму. Це може призвести до виникнення вторинних колібактеріозів, пастерельозу, браздотоподібних захворювань, ентеротоксемії. З моменту потрапляння до кишкового каналу паразити на різних стадіях свого розвитку порушують цілісність епітеліальних клітин та призводять до зниження природної резистентності організму. За одержаними результатами проведених досліджень вірогідне збільшення вмісту IgA спостерігали на 7 добу у 1,4 раза ($P < 0,01$) у тварин дослідної групи відносно контролю. На 14 добу спостерігали підвищення вмісту IgA в 1,5 раза. У крові хворих тварин вміст IgG та IgM знижувався на 21, 28, 30 добу в 1,3 раза ($P < 0,01$). В той же час на 35 добу вміст IgM збільшився на 14,8% порівняно з тваринами контрольної групи.

Формування циркулюючих імунних комплексів являє собою фізіологічний механізм захисту організму, що призводить до швидкого видалення екзогенних і ендогенних антигенів (паразитів, бактерій, вірусів, мікроорганізмів) через ретикулоендотеліальну систему.

Дослідження циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові є одним з діагностичних прийомів визначення ступеня важкості і активності імунопатологічного процесу. При проведенні досліджень на 35 добу у тварин дослідної групи відзначали збільшення концентрації циркулюючих імунних комплексів на 10,5% порівняно з контролем. Підвищення концентрації циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові телят, хворих на криптоспоридіоз, свідчить про наявність специфічної взаємодії антиген-антитіло і зменшення активності гуморальної ланки імунної системи. При визначенні імуносупресивних білків серомукоїдів у сироватці крові телят встановлено, що на 7 та 14 добу їхня концентрація була у фізіологічних межах.

Значні зміни відмічали на 21, 28 і 35 добу, що призводило до вірогідного підвищення їхньої концентрації на 10,5, 16,7 та 20,5% відповідно. Серомукоїди входять до складу сполучної тканини організму. У випадках пошкодження, руйнування останньої серомукоїди попадають в плазму крові. Серомукоїди – це фракція вуглеводно-білкового комплексу, що є показником білкового обміну. Останній складає 1% всіх білків сироватки, включаючи 12% вуглеводів плазми.

Для виявлення запальних процесів, що в'яло перебігають діагностичне значення має визначення концентрації серомукоїдів. Підвищення їх концентрації свідчить про наявність механічного пошкодження тканин, адже вони є обов'язковим компонентом міжклітинного простору.

Висновки

1. Зміни активності ферментів сироватки крові на початкових стадіях захворювання не є специфічними, вони вказують на компенсаторну реакцію клітин печінки та жовчовивідних шляхів.

2. Вплив криптоспоридій на організм телят супроводжується вираженими порушеннями, які впливають на обмін білків, вуглеводів та активність ферментів. Ці зміни призводять до структурних змін органів на клітинному рівні.

3. У сироватці крові інвазованих тварин вірогідно знижується вміст загального білка на 25,5% ($P < 0,001$), альбумінів – на 14,6% ($P < 0,01$), концентрація глюкози на – 21,2% ($P < 0,01$), вміст каротину – на 12,6% ($P < 0,05$), рівень Кальцію і Фосфору – на 17,5 та 18% ($P < 0,05$) відповідно, а також підвищується вміст загального білірубину на 23% ($P < 0,001$), що свідчить про істотні порушення білоксинтезуючих і дезінтоксикаційних процесів у печінці та напругу в обміні речовин їх організму.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробці сучасних антигельмінтиків за криптоспоридіозу і дослідити їх вплив на загальний стан організму тварин.

References

- Arroyo, V., Ginès, P., Gerbes, A.L., Dudley, F.J., Gentilini, P., Laffi, G., Reynolds, T.B., Ring-Larsen, H., & Schölmerich, J. (1996). Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and HRS in cirrhosis. *Hepatology*, 23(1), 164–176. doi: 10.1002/hep.510230122.
- Belova, Ja.V., & Altufev, Ju.V. (2009). Mechanizm razvitiya patologicheskikh processov v pecheni. *Zhurnal fundamental'nykh prikladnykh issledovanij*, 3(28), 114–120 (in Russian).
- Bryson, N.R., Horak, I.G., Höhn, E.W., & Louw, J.P. (2000). Ectoparasites of dogs belonging to people in resource-poor communities in North West Province, South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, 71(3), 175–179. doi: 10.4102/jsava.v71i3.709.
- Dubova, O.A. (2016). Shock and DIC–syndrome as a pathogenetic axis of dogs babesiosis. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj*, 18, 2(66), 70–73. doi: 10.15421/nvlvet6615.
- Dubova, O.A., Soroka, N.M., & Kalynovskyi, H.M. (2005). Laboratorna diahnostyka nabutykh rozladiv systemy hemostazu u sobak. *Navch. Posibnyk*. Kyiv: Vydavnytstvo Natsionalnoho ahrarnoho universytetu (in Ukrainian).
- Grinev, M.V. (2007). Shok kak universal'nyj patogeneticheskij process pri kriticheskikh sostojaniyah organiz-

- ma. Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova, 166(4), 92–97 (in Russian).
- Gutyj, B., Hariv, I., Gunchak, V., Sobolta, A., Prijma, O., & Iesina, E. (2018). The influence of “Amprolinsile” and brovitacoccide on the activity of blood serum enzymes by the eumeriosic invasion. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 20(83), 51–55. doi: 10.15421/nvlvet8310.
- Yaremko, O., & Pelenio, R. (2016). The activity of aminotransferases in the blood serum of calves on the effects of pyridoxine hydrochloride. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 18(4(72)), 144-148. Retrieved from <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/1000>.
- Zinko, H.O. (2017). Immune status of calves sick with gastroenteritis. Scientific Messenger LNUVMB, 19(82), 61–65. doi:10.15421/nvlvet8213.
- Wozniak, E.J., Barr, B.C., Thomford, J.W., Yamane, I., McDonough, S.P., Moore, P.F., Naydan, D., Robinson, T.W., & Conrad, P.A. (1997). Clinical, anatomic and immunopathologic characterization of Babesia gibsoni infection on the domestic dog (Canis familiaris). The Journal of Parasitology, 83(4), 692–699. doi: 10.2307/3284248.