

Original researches

The effect of amaranth based feed additives on the indicators of rabbits' cellular immunity during the eimeriosis

Y. V. Duda

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 27 December 2019

Revised: 17 January 2020

Accepted: 29 January 2020

Dnipro State Agrarian and Economic
University, Sergii Efremov Str., 25, Dnipro,
49600, Ukraine

Tel.: +38-067-781-54-69

E-mail: duda.yu.v@dsau.dp.ua

Cite this article: Duda, Y. V. (2019). The effect of amaranth based feed additives on the indicators of rabbits' cellular immunity during the eimeriosis. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(1), 13–19. doi: 10.32819/2020.81003

Abstract. Analysis of modern literary sources concluded that amaranth has high biological value and that eimeriosis is widespread across the rabbit farms. Therefore, to increase the effectiveness of natural feed additive usage, it is necessary to develop scientifically based systems for its use, taking into account animals' biological characteristics and their disease. The animals of the experimental group were fed by an amaranth oilcake with the same feed as in the control group for one month. The infestation intensity (II) was determined by the method of McMaster. B- and T-lymphocytes count was determined by the spontaneous rosette formation method with sheep erythrocytes. It was found that feed additive based on amaranth oilcake reduced II by 2.58 times in the experimental group, while II in the control group was increased by 1.25 times. It has also decreased leukocyte count due to a drop-in lymphocytes regarding the preparatory period and control group, by 1.50 times and 1.29 times respectively. During this period, rabbits from the experimental group compared to the control and preparatory period had a lower number of neutrophilic metamyelocytes (by 3.62 and 2.24 times, respectively) and eosinophils (by 1.91 and 2.26 times, respectively). Monocytes and basophils in the rabbits' experimental group decreased by 1.79 and 3.40 times compared with the control ones. It was found that in the control, during the month, there was an increase in the number of neutrophilic metamyelocytes by 2.00 times, monocytes by 3.09 times and basophils by 1.89 times compared to the decrease of eosinophils by 1.55 times. In the blood of experimental group animals, relative to the preparatory period and control, a decrease in the number of B-lymphocytes (by 1.36 and 1.53 times, respectively), O-lymphocytes (by 2.26 and 4.39 times), T-helpers (by 1.69 and 1.45 times), T-active (2.35 and 1.73 times), IRI (at 1.81 times and 1.32 times), while the percentage of T-lymphocytes increased (by 1.23 times) than in the control group. The percentage of T-suppressors in the experimental group increased by 1.93 times against a decrease in T-active lymphocytes by 1.17 times compared to the control. The amaranth oilcake showed an eimeriostatic effect when feeding it to animals for a month. The feed additive suppressed the inflammatory processes in the intestinal mucosa, that aroused by the parasite *Eimeria spp.* Prospects for further research are to determine the effect of this oilcake on the level of rabbits' blood A, G, M immunoglobulins during eimeriosis.

Keywords: *Eimeria spp.*; leukogram; T-lymphocyte; B-lymphocyte; O-lymphocyte; amaranth oilcake.

Вплив кормової добавки на основі амаранту на показники клітинного імунітету кролів за еймеріозу

Ю. В. Дуда

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Анотація. Аналіз сучасних літературних джерел дає підстави стверджувати про високу біологічну цінність амаранту та широке розповсюдження еймеріозу в кролівничих господарствах. Тому для підвищення ефективності застосування природної кормової добавки потрібне розроблення науково обґрунтованих систем її використання з урахуванням біологічних особливостей тварин і захворювання. Тваринам дослідної групи згодовували корми раціону контрольної та упродовж місяця давали амарантову макуху. Інтенсивність інвазії визначали методом Мак-Мастера, кількість В- та Т-лімфоцитів – методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана. Встановлено, що кормова добавка на основі амарантової макухи знизила інтенсивність інвазії в 2,58 раза у дослідній групі, при цьому інтенсивність інвазії у контрольній зросла в 1,25 раза. За її впливу виявлено кількісне зниження лейкоцитів за рахунок падіння лімфоцитів відносно підготовчого періоду та контролю відповідно в 1,50 та 1,29 раза. У цей період у дослідних кролів проти контролю та підготовчого періоду виявлено низьку кількість паличкоядерних нейтрофілів (відповідно в 3,62 та 2,24 раза) й еозинофілів (в 1,91 та 2,26 раза). Моноцити та базофіли у цих тварин зменшились в 1,79 та 3,40 раза, порівняно з показниками контрольних тварин. З'ясовано, що у контролі впродовж місяця підвищилась кількість паличкоядерних нейтрофілів (в 2,00 раза), моноцитів (в 3,09 раза) та базофілів (в 1,89 раза) на фоні зниження еозинофілів (в 1,55 раза). У крові тварин дослідної групи відносно підготовчого періоду та контролю встановлено зниження кількості В-лімфоцитів (відповідно в 1,36 та 1,53 раза), О-лімфоцитів (в 2,26 та 4,39 раза), Т-хелперів (в 1,69 та 1,45 раза), Т-активних (в 2,35 та 1,73 раза), ІРІ (в 1,81 та 1,32 раза), при цьому відсоткове значення Т-лімфоцитів зросло в 1,23 раза проти контролю. Відсоток Т-супресорів у досліді збільшився в 1,93 раза на тлі зменшення Т-активних лімфоцитів в 1,17 раза порівняно з контролем. Амарантова макуха за згодовування її впродовж місяця проявляла еймеріостатичну дію. Кормова добавка сприяла гасанню запальних процесів на слизовій кишківника, які виникли через паразитування еймерій. Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні впливу цієї макухи на рівень імуноглобулінів А, G, M крові кролів на фоні паразитування *Eimeria spp.*

Ключові слова: *Eimeria spp.*; лейкограма; Т-лімфоцит; В-лімфоцит; О-лімфоцит; амарантова макуха.

Вступ

Збільшення виробництва кормів і правильне їх використання – одна з найважливіших проблем сучасного сільськогосподарського виробництва. Зміцнення кормової бази в найближчі роки має здійснюватися не тільки за рахунок розширення посівних площ під кормові культури, а переважно за рахунок підвищення їх урожайності і поживної цінності. Наразі для збільшення продуктивності сільськогосподарських тварин і поліпшення їх виживання рекомендується включати амарант до складу раціонів. У дослідях на валухах показано, що максимальна перетравність сухої речовини зеленої маси амаранту досягає 76 %, а сирого протеїну – може перевищувати 72 %.

Для оцінювання поживної цінності амаранту проведено низку досліджень на лабораторних тваринах. Тест на токсичність, зроблений на щурах (Pino et al., 1991), показав, що амарант не викликає серйозних порушень фізіологічних процесів. Дані, отримані Rankova (1997), свідчать, що включення амаранту в раціони знижує кількість холестерину в печінці і в сироватці крові. У дослідях, проведених іншими вченими, встановлено, що амарант, збагачений залістим фумаратом – це для лабораторних щурів найкраще біологічно доступне джерело заліза (Ologunde et al., 1992). За згодовування насіння амаранту в раціонах кролів низка вчених виявили зміни функцій серцево-судинної системи, які свідчили про посилення кровообігу, обумовленого підвищенням інтенсивності обмінних процесів в організмі (Zhukov & Hirug, 1993; Sidорова et al., 2008). Деякі дослідники зазначили, що добавка зерна амаранту в раціон телят викликає збільшення приросту живої маси, підвищує кількість формених елементів і вміст гемоглобіну крові, а також збільшує концентрацію білка плазми. У більшості інших досліджень, проведених на птахів, насіння амаранту використовували як кормову добавку (Chernyh & Perelina, 1996; Pisarikova et al., 2006). Включення насіння або борошна з насіння амаранту або в суміші з насінням ріпаку в комбікорм птиці збільшує збереження поголів'я, викликає підвищення приросту маси курчат-бройлерів і знижує витрати корму на одиницю продукції. Добавка борошна з насіння амаранту в раціон курей-несучок завдяки зміні жирнокислотного складу поліпшує дієтичні якості яєць. Однак це супроводжується незначним зниженням яєчної продуктивності.

Еймеріоз кролів дуже поширений як у зарубіжних країнах (Jing et al., 2011; Liu et al., 2018; Wang et al., 2018), так і в Україні (Manzhos et al., 2010; Levytska, 2011; Podavec' & Dankovych, 2014; Trofimov & Stegnij, 2014; Gavrilina & Kolesnik, 2016; Duda, 2019a; Franchuk-Kryva, 2019). Загибель, затримка розвитку та росту кроленят, порушення якості м'яса в результаті еймеріозної інвазії спричинюють значні економічні збитки (Pakandl et al., 2008; Papeschi et al., 2013). У зв'язку з цим проблема профілактики еймеріозної інвазії, що базується на зміцненні імунної системи, залишається актуальною.

Питання імунітету за еймеріозів тварин вивчали в декількох напрямках. Досліджували популяції лімфоцитів за цієї інвазії (Madatov & Elchiev, 1992; Elchiev et al., 1992), вплив імуносупресорів на розвиток протиеймеріозного імунітету (Augustine & Vetterling, 1984; Padmavathi et al., 1988), з'ясували антигенний склад різних стадій розвитку еймерій (Elchiev et al., 1992; Wisher, 1986; Reduker & Speer, 1986). Відомо, що імунітет до еймерій не тільки видоспецифічний (Rose, 1975), а й стадіоспецифічний (Zajac, 1987; Augustine et al., 1988). Низка науковців (Musaev et al., 1996) вважали, що кожна стадія розвитку паразита зі своїм специфічним антигенним набором викликає утворення відповідних Т-лімфоцитів, що виконують як функцію руйнування паразитів (кілерна активність), так і допоміжну функцію (хелперна активність), яка сприяє клонуванню В-клітин. Т-лімфоцити беруть участь у реакціях клітинного імуніте-

ту, В-лімфоцити, трансформуючись у плазматичні клітини, які синтезують антитіла, зумовлюють гуморальну імунну відповідь (Petrov et al., 1983). Супресорні Т-клітини можуть бути критичною ланкою у визначенні ходу деяких паразитарних захворювань (Chatenoud & Bach, 1990). Ступінь напруженості імунітету багато в чому залежить від кількості інвазійних елементів, що надходять в організм господаря, активності окремих генерацій паразитів, числа повторних заражень і, звичайно, від фізіологічного стану макроорганізму (Daugaljeva & Kurochkina, 1996).

Наведені дані свідчать про високу біологічну цінність амаранту та широке розповсюдження еймеріозу в кролівничих господарствах. Тому для підвищення ефективності застосування натуральної кормової добавки природного походження потрібне розроблення науково обґрунтованих систем її використання з урахуванням біологічних особливостей тварин і захворювань, що найчастіше реєструються серед них.

Основна мета нашої роботи – з'ясувати вплив амарантової макухи на показники клітинного імунітету кролів на фоні паразитування одноклітинних роду *Eimeria*.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводилось на кролях-самцях віком від 4,5 до 5 місяців каліфорнійської породи в ТОВ «Олбест» з клітковим утриманням (м. Дніпро Дніпропетровської області), поділених на дві групи – контрольну і дослідну, підібраних за принципом аналогів. Кролям контрольної групи (контроль) згодовували без обмежень повноцінний гранульований комбікорм із вільним доступом до води. Тварин дослідної групи (дослід) згодовували корми раціону контрольної групи та упродовж місяця давали амарантову макуху. Кормову добавку отримано від ТОВ «ТПГ «Амарант» (м. Дніпро). Амарантову макуху, котру використовували під час годівлі кролів, дослідили на вміст основних поживних речовин (табл. 1) у Виробничо-технологічному центрі контролю якості та безпеки продуктів харчування, комбікорму та комбікормової сировини, який акредитований відповідно до вимог ISO / IЕ 17025: 2006.

Лабораторні дослідження проводили в науковій лабораторії кафедри паразитології та ветсанекспертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету та у

Таблиця 1. Основні поживні речовини в амарантовій макусі, %

Показник	Результат випробувань	Метод випробувань
Сирий протеїн	16,600	ISO 5983-2:2009
Сирий жир	3,730	ДСТУ ISO 6492:2003
Сира клітковина	3,050	ДСТУ ISO 6865:2004
Сира зола	2,350	ДСТУ ISO 5984:2004
Крохмаль	61,460	ГОСТ 10845-98
Кальцій	0,220	ПВ02/01-13
Фосфор	0,440	ПВ02/02-13
Магній	0,230	ПВ02/01-13
Триптофан	0,321	ГОСТ 13496.21-87
Треонін	0,584	ДСТУ ISO 13903:2009
Лізин	0,893	ДСТУ ISO 13903:2009
Цистин	0,315	ДСТУ ISO 13903:2009
Метіонін	0,288	ДСТУ ISO 13903:2009
Лінолева кислота	36,31	ДСТУ ISO/TS 17764:2005

випробувальному центрі Запорізької обласної державної лабораторії Державної служби безпеки харчових продуктів і захисту споживачів, який акредитований відповідно до вимог ISO / IЕ 17025: 2006, свідоцтво про акредитацію № 2Н305 Національного агентства з акредитації України.

Дослід тривав 40 діб: підготовчий період – 10, дослідний – 30 діб. У підготовчому періоді на 10-ту добу від початку дослідження та 40-ву добу (у дослідному періоді) відбирали зразки фекалій, а також крові з крайової вушної вени проколом одноразовою голкою у стерильний шприц і знову зразки фекалій. Місце відбору крові було оброблене спиртом. Для дослідження крові використовували 5 % розчин трилону Б на фізіологічному розчині як антикоагулянт, який найменше завдає шкоди клітинам крові.

Під час дослідження у кролів реєстрували такі види еймерій як *Eimeria stiedae*, *E. perforans* та *E. magna*. Видовий склад еймерій встановлювали за визначником С. М. Хейсіна з урахуванням форми, кольору, довжини та ширини ооцист, наявності чи відсутності мікропіле, полярної гранули, остаточного тіла в ооцисті і спорочисті, а також довжини перебігу препаратного і патентного періодів (Hejsin, 1967). З метою визначення рівня ураженості кролів збудником *Eimeria spp.* їх фекалії досліджували за методом Мак-Мастера.

Загальну кількість Т-лімфоцитів визначали методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Cheredeev, 1976; Sitailo et al., 2000; Vlizlo et al., 2012). Визначення кількості В-лімфоцитів проводили методом комплементарного розеткоутворення (ЕАС-РУК) (Maslyanko et al., 2001). Число О-клітин підраховували відніманням від 100 % суми загальної кількості Т-лімфоцитів та В-лімфоцитів. Проби крові (по 4,5 мл) відбирали від тварин і стабілізували 5 % розчином трилону Б на фізіологічному розчині у розрахунку 1 : 9. Виділення фракції лімфоцитів проводили шляхом центрифугування крові, попередньо розведеної 1 : 1 і нашарованої на градієнт щільності верографіну (1,077).

Центрифугування проводили впродовж 30 хв у режимі 1 500 об./хв. Після цього відбувалося розшарування крові з утворенням червоного осадку (еритроцитів та гранулоцитів), білого кільця на межі середовищ (суспензії лімфоцитів) та надоводової рідини (верографіну). Розшаровану суспензію лімфоцитів відбирали пастерівською піпеткою і ресуспендували в 5 мл трис-буферу, після чого двічі відмивали у центрифужному режимі 1 500 об./хв упродовж 10 хвилин. Оцінивши життєздатність відмитих лімфоцитів (фарбування 0,1 % еозином), їх стандартизували до концентрації 2×10^6 /мл.

На початку досліду готували індикаторну (маркерну) систему для реакцій Е-РУК та ЕАС-РУК. Для цього використовували еритроцити барана. Еритроцитарну масу взятої крові (2 мл) тричі відмивали у фізіологічному розчині й центрифугували в режимі – 1 500 об./хв упродовж 15 хвилин. Для індикаторної системи Е-РУК готували 1 % суспензію еритроцитів барана (до 0,1 мл еритроцитів додавали до 10 мл трис-буферу), а для ЕАС-РУК 2,5 % еритроцитарну суспензію (до 0,25 мл еритроцитів додавали до 10 мл трис-буферу), яку обробляли гемолітичною сироваткою, попередньо розведеною (0,02 мл гемолітичної сироватки у титрі 1 : 1200 додавали до 8 мл трис-буферу), у співвідношенні 2 : 2 і в подальшому інкубували 30 хв у термостаті за 37 °С.

Після інкубації гемсистему двічі відмивали трис-буфером. Потім додавали до суспензії еритроцитів комплемент морської свинки після його попереднього розрідження 2 мл фізіологічного розчину та 20-хвилинної експозиційної витримки за кімнатної температури; в подальшому інкубували 30 хв у термостаті за 37 °С. Після інкубації гемсистему тричі відмивали трис-буфером і доводили ним до 10 мл. Реакцію спонтанного розеткоутворення (Е акт-РУК) ставили шляхом змішування

0,1 мл лімфоцитарної маси з 0,1 мл 1 % суспензією еритроцитів із наступним центрифугуванням (5 хв за 1 000 об./хв). Реакцію Е-РУК проводили шляхом 10-хвилинної витримки (за 37 °С) 0,1 мл лімфоцитарної маси в суміші з 0,1 мл 1 % суспензією еритроцитів та 0,1 мл трис-буфера, яку після центрифугування (5 хв за 1 000 об./хв) інкубували у холодильнику за 4 °С впродовж години. Реакція ЕАС-РУК відбувалася в умовах 30-хвилинної інкубації в термостаті (за 37 °С), з наступним 5-хвилинним центрифугуванням (1 000 об./хв). Реакція Е-РУК з теофіліном відбувалася в умовах ступінчастої інкубації в термостаті – 30 хв за 37 °С, з наступним центрифугуванням (5 хв за 1 000 об./хв) і додаванням 0,1 мл 1 % суспензії еритроцитів (10 хв за 37 °С), а потім після центрифугування (5 хв за 1 000 об./хв) інкубували в холодильнику за 4 °С протягом години. Розетки, які утворилися в процесі реакції, фіксували 0,06 % глотаровим альдегідом (20–30 хв), а потім на предметних скельцях готували мазки. Готові мікропрепарати фіксували етанолом (10 хв) та фарбували за Романовським-Гімзою (5–7 хв).

Результати реакцій оцінювали шляхом підрахунку під мікроскопом 200 лімфоцитів. За розетку рахували лімфоцит, що приєднав 3 і більше еритроцитів. Число Т-клітин з переважно супресорною активністю (Т-супресори) – шляхом віднімання числа теофілінрезистентних Т-клітин (Т-хелпери) від загального числа Т-лімфоцитів. Імунорегуляторний індекс (ІРІ) розраховували як співвідношення теофілінрезистентних Т-клітин до теофілінчутливих.

У роботі з тваринами дотримувалися вимог Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18.03.1986 р.), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених на Першому національному конгресі з біоетики (м. Київ, 20.09.2001 р.), статті 26 Закону України № 5456-VI від 16.10.2012 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Директиви ЄС 86/609/ЄЕС від 24.11.1986 р.

Статистичну обробку експериментальних результатів для визначення біометричних показників (середні значення та їх похибки, порівняння середніх значень за критерієм Стьюдента) здійснювали з використанням програми *Microsoft Excel-16*.

Результати

Встановлено, що рівень ураження кролів еймеріями контрольної та дослідної груп до початку досліду складала відповідно $621,74 \pm 37,70$ та $670,00 \pm 44,19$ ооцисти в 1 г фекалій. Інтенсивність інвазії (ІІ) на 40-ву добу від початку дослідження складала у контрольній групі тварин $775,00 \pm 182,33$ ооцисти в 1 г фекалій, у дослідній – $260,00 \pm 143,91$ ооцисти в 1 г фекалій. Кормова добавка на основі амарантової макухи вірогідно знизилася ІІ в 2,58 раза ($P < 0,001$) у дослідній групі, при цьому ІІ у контрольній зросла в 1,25 раза. Тобто ця добавка проявила протіеймеріозні властивості.

З'ясовано, що у крові кролів, хворих на еймеріоз, яким згодували амарантову макуху, виявлені певні відхилення морфологічних показників порівняно з контрольними тваринами (табл. 2).

Аналізуючи одержані дані, відмітили кількісне зниження лейкоцитів до $6,21 \pm 0,30$ Г/л, в основному за рахунок вірогідного падіння лімфоцитів до $2,95 \pm 0,28$ Г/л. Зниження лімфоцитів спостерігали за впливу кормової добавки відносно підготовчого періоду та контролю відповідно в 1,50 ($P < 0,001$) та 1,29 раза ($P < 0,001$). Зокрема, у цей період у дослідних кролів проти контролю та підготовчого періоду виявлено низьку кількість паличкоядерних нейтрофілів і еозинофілів відповідно в 3,62 ($P < 0,001$) та 2,24 раза ($P < 0,05$) і в 1,91 ($P < 0,05$) та 2,26 раза ($P < 0,01$). Моноцити та базофіли у цих тварин також зменшились в 1,79 ($P < 0,01$) та в 3,40 раза ($P < 0,001$), порів-

Таблиця 2. Лейкоцитарна формула крові кролів, хворих на еймеріоз за згодовування амарантової макухи ($M \pm m$)

Показник	Періоди досліджень	Групи тварин	
		контроль, n = 23	дослід, n = 26
Лейкоцити, Г/л	підготовчий	7,51 ± 0,24	6,83 ± 0,28
	дослідний	7,76 ± 0,45	6,21 ± 0,30**
Лімфоцити, Г/л	підготовчий	4,54 ± 0,17	4,00 ± 0,19
	дослідний	4,52 ± 0,28	2,95 ± 0,27*** °°°
Нейтрофіли: сегментоядерні, Г/л	підготовчий	1,70 ± 0,08	1,55 ± 0,12
	дослідний	1,53 ± 0,10	1,30 ± 0,13
паличкоядерні, Г/л	підготовчий	0,38 ± 0,08	0,47 ± 0,10
	дослідний	0,76 ± 0,09^^	0,21 ± 0,03***°
Еозинофіли, Г/л	підготовчий	0,68 ± 0,07	0,52 ± 0,09
	дослідний	0,44 ± 0,07^^	0,23 ± 0,03*°°
Моноцити, Г/л	підготовчий	0,11 ± 0,03	0,18 ± 0,05
	дослідний	0,34 ± 0,04^^^	0,19 ± 0,03**
Базофіли, Г/л	підготовчий	0,09 ± 0,02	0,09 ± 0,02
	дослідний	0,17 ± 0,02^^	0,05 ± 0,01***

Примітка: тут і далі статистично вірогідні різниці між дослідом і контролем: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$; тут і далі статистично вірогідні різниці між контролем у різні періоди досліджень: ^ – $P < 0,05$; ^^ – $P < 0,01$; ^^ – $P < 0,001$; тут і далі статистично вірогідні різниці між дослідом у різні періоди досліджень: ° – $P < 0,05$; °° – $P < 0,01$; °°° – $P < 0,001$.

няно з аналогічними показниками крові контрольних тварин. Крім цього, встановлено, що у контролі в дослідному періоді порівняно з підготовчим підвищилась кількість паличкоядерних нейтрофілів (в 2,00 рази, $P < 0,01$), моноцитів (в 3,09 $P < 0,001$) та базофілів (в 1,89 рази, $P < 0,01$) на фоні зниження еозинофілів (в 1,55 рази, $P < 0,01$).

Виявлено, що у крові кролів, хворих на еймеріоз, у разі згодовування амарантової макухи, вірогідні відхилення не тільки в кількісному значенні загальних лімфоцитів, а також В-, Т-лімфоцитів і їх популяцій у крові кролів дослідних груп порівняно з контролем (табл. 3).

Аналіз отриманих даних показав зниження В- і О-лімфоцитів у досліді відносно підготовчого періоду та контролю відповідно в 1,36 та 1,53 рази ($P < 0,05$) і в 2,26 та 4,39 рази ($P < 0,001$).

У крові тварин дослідної групи відмічено вірогідний перерозподіл популяцій Т-лімфоцитів, зокрема, Т-хелперів і Т-активних, які знизились відносно підготовчого періоду та контролю відповідно в 1,69 ($P < 0,001$) та 1,45 рази ($P < 0,01$), і в 2,35 ($P < 0,001$) та в 1,73 рази ($P < 0,001$). Такий перерозподіл у популяції Т-клітин зумовив зменшення імунорегуляторного індексу (ІРІ) у кролів дослідної групи в 1,81 ($P < 0,01$) та 1,32 рази ($P < 0,01$), ніж у підготовчий період та контролю відповідно.

Крім кількісних змін основних популяцій лімфоцитів спостерігали і їх відсоткові коливання у досліді проти контролю (рис. 1).

Результати досліджень свідчили, що на фоні паразитування еймерій в організмі тварин кормова добавка позитивно вплинула на ріст у відсотковому значенні популяцій Т-лімфоцитів (в 1,23 рази, $P < 0,001$) і скорочення В- і О-лімфоцитів (відповідно

Таблиця 3. Показники клітинного імунітету кролів хворих на еймеріоз, за згодовування амарантової макухи ($M \pm m$)

Показник	Періоди досліджень	Групи тварин	
		контроль, n = 23	дослід, n = 26
Т-лімфоцити, Г/л	підготовчий	2,45 ± 0,17	2,11 ± 0,12
	дослідний	2,09 ± 0,15	2,01 ± 0,19
В-лімфоцити, Г/л	підготовчий	0,98 ± 0,09	0,84 ± 0,09
	дослідний	0,72 ± 0,05^	0,56 ± 0,05*°
Т-хелпери, Г/л	підготовчий	1,46 ± 0,11	1,25 ± 0,09
	дослідний	1,07 ± 0,08^^	0,74 ± 0,07** °°°
Т-супресори, Г/л	підготовчий	0,98 ± 0,07	0,86 ± 0,09
	дослідний	1,01 ± 0,09	0,93 ± 0,08
ІРІ	підготовчий	1,49 ± 0,14	1,45 ± 0,16
	дослідний	1,06 ± 0,18	0,80 ± 0,03** °°
Т-активні, Г/л	підготовчий	1,54 ± 0,21	1,41 ± 0,19
	дослідний	1,04 ± 0,07^	0,60 ± 0,07*** °°°
О-лімфоцити, Г/л	підготовчий	1,02 ± 0,13	0,86 ± 0,12
	дослідний	1,67 ± 0,13^^^	0,38 ± 0,05*** °°°

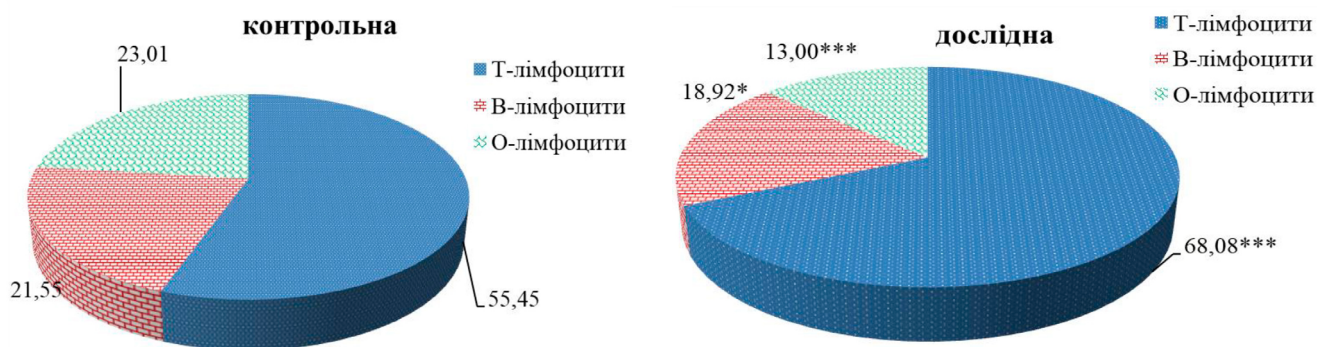


Рис. 1. Кількість Т-, В-, О-лімфоцитів у крові кролів, хворих на еймеріоз, за годоування амарантової макухи ($M \pm m$), %

в 1,14 раза, $P < 0,05$ і в 1,77 раза, $P < 0,001$), ніж контроль.

Відсоткова кількість Т-супресорів у крові кролів дослідної групи (рис. 2) різко збільшилась в 1,93 раза ($P < 0,001$) на фоні зменшення Т-активних лімфоцитів в 1,17 раза ($P < 0,05$) порівняно з аналогічними показниками крові контрольних тварин.

Отже, амарантова макуха як кормова добавка, сприяла зниженню лейкоцитів, в основному за рахунок лімфоцитів, а також паличкоядерних нейтрофілів й еозинофілів. Лімфоцити, у свою чергу, зменшились завдяки падінню кількості Т-хелперів, Т-активних, В- і О-лімфоцитів. Але отримані результати у відсотковому значенні цих показників вказували, що у крові кролів, хворих на еймеріоз, за годоування амарантової макухи знизилась В-, О- та Т-активні лімфоцити на фоні зростання Т-лімфоцитів за рахунок Т-супресорів.

Обговорення

У кролів, яким годували корми раціону контрольної групи та упродовж місяця давали амарантову макуху, в першу чергу відмічається зниження П за еймеріозу. Кормова добавка має еймеріостатичну ефективність. Вважаємо, що вплив цієї добавки на кількість еймерій пояснюється, з одного боку, протизапальною дією (Hossary et al., 2000; Mishra et al., 2007), а з

іншого – репаративним ефектом.

В експерименті у дослідних тварин відмічалось вірогідне зниження лейкоцитів за рахунок лімфоцитів, що зумовлене, на нашу думку, зменшенням антигенної стимуляції в запальному процесі, який затухає.

У лейкограмі дослідних кролів за впливу кормової добавки відносно контролю спостерігали нижчий рівень паличкоядерних нейтрофілів, еозинофілів, моноцитів і базофілів, ніж у контрольних. Така характерна зміна формули свідчить про послаблення й зниження інтенсивності запальної реакції в результаті протимікробної дії амарантової олії (Korenskaya, 2012), що входить до складу макухи (Fedorov & Antipova, 2010).

У контролі в дослідний період відносно підготовчого кількості паличкоядерних нейтрофілів, моноцитів і базофілів істотно збільшилась на фоні зниження еозинофілів, що свідчить про інтенсивний розвиток запальної реакції в організмі хворих кролів, спричиненої *Eimeria* sp. (Kazmirchuk, 2007; Duda, 2019b). Зменшення кількості еозинофілів порівняно з контролем – характерна ознака інтоксикації організму, що спостерігали за еймеріозу телят інші вчені (Slobodjan, 2016).

Природну резистентність доцільніше розглядати як єдиний механізм реактивності, що включає в себе як стереотипні, так і специфічні клітини та гуморальні реакції. Її слід розглядати

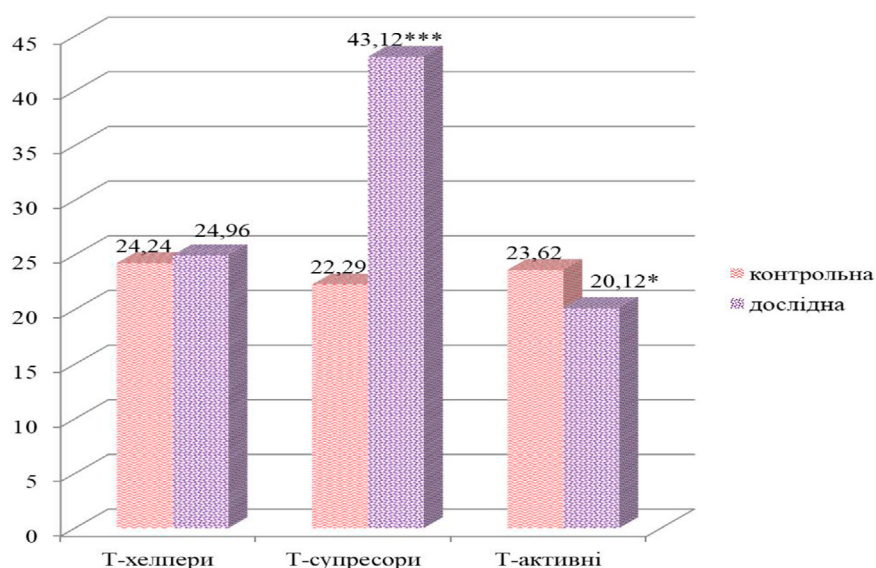


Рис. 2. Кількість Т-активних, Т-хелперів, Т-супресорів у крові кролів, хворих на еймеріоз, за годоування амарантової макухи ($M \pm m$), %

як сукупність усіх факторів специфічного та неспецифічного захисту, у якому клітинні фактори імунітету тісно пов'язані з гуморальними та багатьма іншими захисними пристосуваннями (Dovgij et al., 2011). Як відомо, ступінь імунної відповіді визначається кількістю Т- і В- клітин, які беруть участь у розвитку імунобіологічної реактивності організму (Masljanko, 1999).

Як відомо, за контакту з антигеном або стимуляції з боку Т-клітин деякі В-лімфоцити трансформуються в плазматичні клітини, здатні до продукції антитіл, крім цього В-клітини виступають як антигенпрезентуючі клітини, продукують цитокіни і екзосоми (Samitas et al., 2010). Зниження В-лімфоцитів у досліді відносно підготовчого періоду та контролю говорить про вплив кормової добавки, її здатність знижувати концентрацію антигену. Зокрема, у дослідних тварин одержали вірогідне зменшення О-лімфоцитів відносно підготовчого періоду та контролю. Останні, як відомо, являють собою одну з найбільш реактивних клітинних систем організму та за необхідності можуть перетворюватися на Т- і В-лімфоцити, не проходячи диференціацію в імунних органах (Kazmirchuk, 2007; Zhdan et al., 2010). Кількісна і відносна зміна цих клітин, на нашу думку, відбулась за впливу амарантової макухи на організм кролів, хворих на еймеріоз, і вважається сприятливою для одужання ознакою.

У крові тварин дослідної групи відмічався вірогідний перерозподіл популяцій Т-лімфоцитів, зокрема, Т-хелперів і Т-активних, кількість яких знизилась відносно підготовчого періоду та контролю. При цьому вірогідно зросло у цих кролів відсоткове значення Т-загальних лімфоцитів за рахунок Т-супресорів на фоні відносно високої кількості Т-хелперів. Цей факт вказує на закінчення запального процесу (Gao & Van Dyke, 2014).

Кількісна і відсоткова зміна В-лімфоцитів, О-лімфоцитів та відсоткова – Т-лімфоцитів у крові кролів дослідних груп порівняно із контролем, на нашу думку, відбулась за послаблення впливу екзогенних антигенів, які виділяються і надходять в організм хазяїна у процесі метаболізму *Eimeria spp.*

Висновки

У кролів, яким згодовували упродовж місяця амарантову макуху, виявлено зниження інтенсивності інвазії за еймеріозу, тобто кормова добавка проявляла еймеріостатичну дію.

В лейкограмі дослідних кролів за впливу кормової добавки відносно контролю встановлено нижчий рівень паличкоядерних нейтрофілів, еозинофілів, моноцитів і базофілів, ніж у контрольних. Така характерна зміна формули свідчить про послаблення інтенсивності запальної реакції в результаті протимікробної дії амарантової олії, що входить до складу макухи.

Амарантова макуха як кормова добавка сприяла зниженню лейкоцитів, в основному за рахунок лімфоцитів, які, у свою чергу, зменшились завдяки Т-хелперам і Т-активним та В- і О-лімфоцитам. Такий перерозподіл популяцій лімфоцитів свідчить про згасання запальних процесів на слизовій оболонці кишківника, що виникли через паразитування еймерій.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні впливу амарантової макухи на рівень імуноглобулінів А, G, M крові кролів на фоні паразитування одноклітинних роду *Eimeria*.

References

- Augustine, P., & Vetterling, J. M. (1984). *Eimeria tenella*. Effect of A-binding sites on invasion of cultured cell by *Eimeria tenella* sporozoites. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 51(1), 171–172.
- Augustine, P. C., Danforth, H. D., & McAndrew, S. J. (1988). *Monoclonal Antibodies Reveal Antigenic Differences in Refractile Bodies of Avian Eimeria Sporozoites*. *The Journal of Parasitology*, 74(4), 653.
- Chatenoud, L., & Bach, J. F. (1990). Monoclonal antibodies to CD3 as immunosuppressants. *Seminars in Immunology*, 2(6), 437–477.
- Cheredeev, A. N. (1976). Kolichestvennaya i funktsional'naya ocenka T- i V-sistem immuniteta u cheloveka [Quantitative and functional assessment of T-and B-systems of human immunity]. *General Questions Pathologists*, 4, 126–160 (in Russian).
- Chernyh, R. N., & Pepelina, V. A. (1996). Muka iz semjan rapsa i amaranta v kombikormah dlja cypljat-brojlerov [Rapeseed and amaranth flour in mixed feeds for broiler chickens]. *Zootehniya*, 12, 16–17 (in Russian).
- Daugaljeva, Je. H., & Kurochkina, K. G. (1996). Immunosupressija pri gel'mintozah [Helminthiasis immunosuppression]. *Trudy Vsesojuznogo Insituta Gel'mintologii*, 32, 31–36 (in Russian).
- Dovgij, Ju. Ju., Dubova, O. A., & Feshhenko, D. V. (2011). Najposhyrenishi invazijni hvoroby svijs'kyh tvaryn v Ukraїni [The most common invasive diseases of domestic animals in Ukraine]. 27-39 (in Ukrainian).
- Duda, Y. V. (2019a). Cellular immunity of rabbits incase of parasite association (*Treponema cuniculi* and *Eimeria sp.*). *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 21(96), 8–13.
- Duda, Y. V. (2019b). Non-specific resistance of the rabbits organism affected by causative pathogen *Treponema cuniculi* and *Eimeria sp.* *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, (4), 50–54.
- Elchiev, Ja. Ja., Musaev, M. A., Agaev, K. H., & Madatov, R. I. (1992). Izuchenie antigenogo sostava oocist *Eimeria tenella* i *E. acervulina* [Study of the antigenic composition of *Eimeria tenella* and *E. acervulina* oocysts]. *Citologija*, 34 (4), 58 (in Russian).
- Fedorov, A. A., & Antipova, L. V. (2010). Primenenie zhmyha iz semjan amaranta v proizvodstve kombinirovannyh mjasnyh produktov [The use of oilcake from amaranth seeds in the production of combined meat products]. *Izvestija Vysshih Uchebnyh Zavedenij. Pishhevaja Tehnologija*, (4), 11–13 (in Russian).
- Franchuk-Kryva, L. (2019). Perspectives of application herbal preparation in eimeriosis. *Young Scientist*, 2(66).
- Gao, A., & Van Dyke, T. E. (2014). Role of suppressors of cytokine signaling 3 in bone inflammatory responses. *Frontiers in Immunology*, 4.
- Gavrilina, O., & Kolesnik, A. (2016). Osoblyvosti laboratornoi' diagnostyky ejmeriozu kroliv [Features of laboratory diagnostics of rabbit eimeriosis]. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 4(4), 55–58 (in Ukrainian).
- Hejsin, E. M. (1967). Zhiznennye cikly kokcidij domashnih zhivotnyh [Life cycles of pet coccidia]. *Nauka, Leningrad* (in Russian).
- Hossary, G. A., Sofany, R. H., & Farag, M. A. (2000). Phytochemical and biological investigation of *Amaranthus viridis* L. growing in Egypt. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 38, 2, 129–132.
- Jing, F., Yin, G., Liu, X., Suo, X., & Qin, Y. (2011). Large-scale survey of the prevalence of *Eimeria* infections in domestic rabbits in China. *Parasitology Research*, 110(4), 1495–1500.
- Kazmirchuk, V. Ie. (2007). Interpretatsiia leukohramy ta imunohramy zghidno z suchasnymy pozytsiiami [Interpretation of leacographic and immunographic considerations with modern positions]. *Vnutrenniaia Medytsyna*, 4(4) (in Ukrainian).
- Korenskaya, I. M. (2012). Farmakognosticheskoe izuchenie semjan razlichnyh sortov amaranta pechal'nogo (*Amaranthus hypochondriacus* L.) [The pharmacognostic study of several

- Amaranthus hypochondriacus L. cultivars seeds]. Perm' (in Russian).
- Levytska, V. A. (2011). Epizootologija zmishanoi' ejmerioznoi' invazii' kroliv v zoni Podillja [Epizootology of mixed eimeriosis invasion of rabbits in the Podillya region]. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series «Veterinary Sciences». Part 2, 13, 4(50), 209–211 (in Ukrainian).
- Liu, J., Liu, L., Li, L., Tian, D., Li, W., Xu, L., Yan, R., Li, X., & Song, X. (2018). Protective immunity induced by *Eimeria* common antigen 14–3–3 against *Eimeria tenella*, *Eimeria acervulina* and *Eimeria maxima*. *BMC Veterinary Research*, 14(1).
- Madatov, R. I., & Elchiev, Ja. Ja. (1992). Opredelenie kolichestva T- i V-limfocitov v limfoidnyh organah cypljat pri zarazhenii i immunizacii *Eimeria tenella* [Determination of the number of T and B lymphocytes in the lymphoid organs of chickens during infection and immunization with *Eimeria tenella*]. *Citologija*, 34, 4, 90 (in Russian).
- Manzhos, O. F., Peredera, O. O., & Peredera, R. V. (2010). Efektyvnist okremykh preparativ pry likuvanni eimeriozu kroliv [The effectiveness of individual drugs in the treatment of rabies eimeriosis]. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series «Veterinary Sciences». Part 1, 12, 2(44), 211–215 (in Ukrainian).
- Masljancko, R. P. (1999). Osnovy imunobiologii [Fundamentals of immunobiology]. Vertykal, Lviv (in Ukrainian).
- Maslyanko, R. P., Oleksiuk, I. I., & Padovsky, A. I. (2001). Metodichni rekomendacii dlja otcinki ta kontroliu imunogo statusu tvarin: viznachennia faktoriv nespetsifichnoi rezistentnosti, klitinnikh i gumoralnikh mekhanizmv imunitetu proti infekciinikh zakhvoriuvan [Methodical recommendations for the evaluation and control of the immune status of animals: determination of factors of nonspecific resistance, cellular and humoral mechanisms of immunity against infectious diseases]. Lviv, (in Ukrainian).
- Mishra, M., Tarunkumar, S., Venkatesan, B., Suriaprabha, K., Mullaicharam, A. R., & Muthuprasanna, P. (2007). Antipyretic activity of ethanolic extract of an Indian based herbal drug-amaranthus spinosus. *Journal of Natural Products*, 3(3), 190–193.
- Musaev, M. A., Elchiev, Ja. Ja., & Madatov, R. I. (1996). Sostojanie T- i V-sistem immuniteta pri jejmerioze (*Eimeria tenella*) domashnih kur [The state of T- and B-systems of immunity in eimeriosis (*Eimeria tenella*) of domestic chickens]. *Parazitologija*, 30, 4, 336–342 (in Russian).
- Ologunde, M. O., Sheperd, R. L., & Afolabi, O. A. (1992). Biodisponibilidad del hierro para la dela harina de granos de amaranto. *El Amaranto El Su Potential*, 3-4, 20–21.
- Padmavathi, P., Muralidharam, S. R., G., & Krishnaswamy, S. (1988). A study of the effect of immunosuppression with cyclophosphamide on experimental *Eimeria tenella* infection. *Indian Veterinary Journal*, 65(9), 775–778.
- Pakandl, M., Hlaskova, L., Poplstein, M., Neveceralova, M., Vodicka, T., Salat, J., & Mucksova, J. (2008). Immune response to rabbit coccidiosis: a comparison between infections with *Eimeria flavescens* and *E. intestinalis*. *Folia Parasitologica*, 55(1), 1–6.
- Pankova, S. N. (1997). Fonoforez amarantovogo masla pri lechenii nekotoryh zabojevanij slizistoj obolochki polosti rta [Phonophoresis of amaranth oil in the treatment of certain diseases of the oral mucosa]. *Novye i Netradicionnye Rastenija i Perspektivy ih Ispol'zovanija*, 1, 152–153 (in Russian).
- Papeschi, C., Fichi, G., & Perrucci, S. (2013). Oocyst excretion pattern of three intestinal *Eimeria* species in female rabbits. *World Rabbit Science*, 21(2).
- Petrov, R. V., Haitov, P. M., & Ataulhanov, R. I. (1983). Immunogenetika i iskusstvennye antigeny [Immunogenetics and artificial antigens]. Medicine, Moscow (in Russian).
- Pino, A. C., Penate, M. A., Perez, T. G., & Nilda, R. (1991). Evaluacion toxicologia de una variated de amaranto. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 5(1), 83–87.
- Pisarikova, B., Zraly, Z., Kracmar, S., Trckova, M., & Herzig, I. (2006). The use of amaranth (genus *Amaranthus* L.) in the diets for broiler chickens. *Veterinari Medicina*, 51(7), 399–407.
- Reduker, D. W., & Speer, C. A. (1986). Antigens of in vitro-produced first-generation merozoites of *Eimeria bovis* (Apicomplexa). *The Journal of Parasitology*, 72(5), 782.
- Rose, M. E. (1975). Infections with *Eimeria maxima* and *Eimeria acervulina* in the fowl: effect of previous infection with the heterologous organism on oocyst production. *Parasitology*, 70(2), 263–271.
- Samitas, K., Lötvall, J., & Bossios, A. (2010). B cells: from early development to regulating allergic diseases. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 58(3), 209–225.
- Sidorova, K. A., Esenbaeva, K. S., Petrova, N. A., Bektasheva, A. A., & Veremeeva, S. A. (2008). Kormovye dobavki v racionalah krolikov [Feed additives in rabbit diets]. *Veterinarnyj Vrach*, 6, 51–53 (in Russian).
- Sitailo, S. G., Elchaninova, T. I., & Vasilenko, Y. I. (2000). Sovremennye metody otcenki immunogo statusa [Modern methods for assessing the immune status]. *Krivoy Rog* (in Ukrainian).
- Slobodjan, R. O. (2016). Ejmerioz teljat (poshyrennja, diagnostyka ta likuvannja) [Eimeriosis of calves (distribution, diagnosis and treatment)]. Kyiv (in Ukrainian).
- Trofimov, N. N., & Stegnij, B. T. (2014). Problemy jejmerioza krolikov v hozjajstvah AR Krym [Problems of eimeriosis of rabbits in farms of Crimea]. *Veterinarija i Kormlenie*, 3, 36–37 (in Russian).
- Vlizlo, V. V., Fedorchuk, R. S., & Ratych, I. B. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynyntstvi ta veterynarii medytsyni: dovidnyk [Laboratory methods of research in biology, livestock and veterinary medicine]. Lviv, Spolom, (in Ukrainian).
- Wang, P., Li, J., Gong, P., Wang, W., Ai, Y., & Zhang, X. (2018). An OTU deubiquitinating enzyme in *Eimeria tenella* interacts with *Eimeria tenella* virus RDRP. *Parasites & Vectors*, 11(1).
- Wisher, M. H. (1986). Identification of the sporozoite antigens of *Eimeria tenella*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 21(1), 7–15.
- Zajac, A. M. (1987). The role of gastrointestinal immunity in parasitic infections of small animals. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery*, 2(4), 274–281.
- Zhdan, V. M., Zazykina, D. S., & Lebid, V. G. (2010). Aspekty praktychnoi gematologii [Aspects of practical hematology]. Poltava (in Ukrainian).
- Zhukov, Ju. A., & Hirug, S. S. (1993). Izmenenie funkcional'nogo sostojanija serdechnosudistoj sistemy zhivotnyh pri kormlenii ih amarantom [Change in the functional state of the cardiovascular system of animals when feeding them with amaranth]. *Amarant: agrojekologija, pererabotka, ispol'zovanie*, 89–92 (in Russian).