

УДК 579:591.111.7

Кравченко Н.О., кандидат ветеринарних наук[©]
Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН, Чернігів

ВПЛИВ НА ФАГОЦИТАРНУ АКТИВНІСТЬ КРОВІ МАКРООРГАНІЗМУ ФЕРМЕНТАТИВНО-УЛЬТРАЗВУКОВИХ ЛІЗАТИВ АТИПОВИХ МІКОБАКТЕРІЙ

Представлені дані щодо впливу ферментативно-ультразвукових лізатів атипових мікобактерій на фагоцитарну систему крові кролів.

Встановлено, що ферментативно-ультразвукові лізати атипових мікобактерій за концентрації 0,1 мг/см³ достовірно ($p < 0,05$) стимулюють фагоцитарну активність крові лабораторних тварин та є не токсичними.

Ключові слова: атипові мікобактерії, ферментативно-ультразвукові лізати, токсичність, фагоцитарна активність.

Вступ. У системі лікувальних та профілактичних заходів захворювань молодяку сільськогосподарських тварин, що виникають на фоні недостатньо сформованої природної резистентності та імунологічної реактивності організму, важливим і актуальним завданням є корекція імунного статусу макроорганізму [1,2].

Відомо, що первинним етапом у розвитку імунної відповіді макроорганізму на вплив зовнішнього середовища є фагоцитарна система, яка здатна забезпечити зв'язок між клітинними і гуморальними факторами захисту та між специфічною і неспецифічною резистентністю організму. Напевно речовини, які найбільшою мірою стимулюватимуть макрофагальну систему організму будуть активізувати і інші ланки імунітету [3,4].

Найбільш сильний стимулюючий ефект на фагоцитарну систему та антимикробну резистентність макроорганізму порівняно з іншими імуностимуляторами виявляють речовини мікробного походження [4,5].

У сучасній ветеринарній практиці використовують велику кількість імуностимулюючих засобів, в тому числі і мікробних, що різняться між собою за походженням, хімічною структурою, способом одержання та механізмом дії [6-9]. Бактеріальні препарати можна розділити на такі, що складаються з цілих мікробних клітин (БЦЖ), бактеріальних полісахаридів (пірогенал, продигіозан), екстрактів та рибосом мікробних клітин (бронхомунал, рибомуніл), препаратів клітинної стінки (біостим, лактолен) та мінімальних компонентів клітинної оболонки (мурамилдипептиди). Широкий вибір препаратів з клітинних компонентів мікроорганізмів умотивований їх ефективною імуностимулюючою дією за умови недостатньої активності ферментів макрофагальної системи організму тварин до розщеплення цілих клітин бактерій [3,5].

Однак, стримуючим фактором для широкого використання бактеріальних імуностимуляторів є поява після застосування більшості з них небажаних

[©] Кравченко Н.О., 2010

реакцій: алергічних, токсичних [5]. Тому пошукові роботи з удосконалення та розробки нешкідливих, високоефективних, доступних та недорогих препаратів тривають.

Метою даної роботи було дослідити вплив ферментативно-ультразвукових лізатів атипичних мікобактерій на фагоцитарну активність крові лабораторних тварин.

Матеріали і методи. Науково-дослідна робота щодо встановлення впливу на фагоцитарну активність крові лабораторних тварин ферментативно-ультразвукових лізатів атипичних мікобактерій (ФУЛАМ) проводилась зі штамми мікобактерій, виділених з проб біологічного матеріалу (лімфатичних вузлів, внутрішніх органів та молока великої рогатої худоби) за методом Алікасової. Культивування їх проводили на щільному середовищі Левенштейна-Йенсена при 37⁰С упродовж місяця. Ідентифікацію виділених мікобактерій проводили згідно методичних рекомендацій по лабораторній діагностиці туберкульозу (м. Омськ, 1988). Для одержання лізатів атипичних мікобактерій надтонкої дисперсності здійснювали їх автоклавування за 2 атм. упродовж години, холодний ферментативний гідроліз розчином лізоциму та ультразвукову обробку на дезінтеграторі УЗДН-А при 22 кГц [10].

Токсичність та реактогенність лізатів досліджуваних атипичних мікобактерій встановлювали за результатами внутрішньошкіряних ін'єкцій кролю у дозі 0,2 см³. Облік результатів проводили шляхом спостереження за утворенням інфільтратів та швидкістю їх розсмоктування упродовж десяти діб.

Фагоцитарну активність крові лабораторних тварин досліджували за загальноживаною методикою [11]. Задля цього формували групи кролів, яким вводили досліджувані лізати атипичних мікобактерій підшкірно у дозі 0,5см³ на тварину, трьохразово, з інтервалом 7 діб.

Було поставлено два досліди на кролях. У першому – досліджували вплив ФУЛАМ різних штамів на показники фагоцитарної активності крові за однакової концентрації. У другому досліді – вплив на макрофагальну систему кролів одного штаму ФУЛАМ, але за різної концентрації.

Результати дослідження. Виділені з проб біологічного матеріалу штами мікобактерій (ДМ-13, ДЛ-4, РЯ, КТК) за результатами дослідження їх культурально-морфологічних властивостей були віднесені за класифікацією Раньона до IV групи швидкорослих атипичних мікобактерій.

З метою більш повного поглинання та розщеплення бактеріальних клітин ферментами макрофагальної системи макроорганізму автоклавовану бактеріальну масу досліджуваних штамів атипичних мікобактерій піддавали ферментативній та ультразвуковій обробці, після чого у досліді на лабораторних тваринах визначали вплив їх лізатів на фагоцитарну активність крові лабораторних тварин.

У трьох дослідних групах тварин було встановлено підвищення активності поліморфноядерних лейкоцитів (ПМЯЛ) крові на 11-24 % від показників контрольної групи тварин (рис.1).

Одержані результати підтверджують дані літературних джерел стосовно імуностимулюючої дії атипівих мікобактерій.

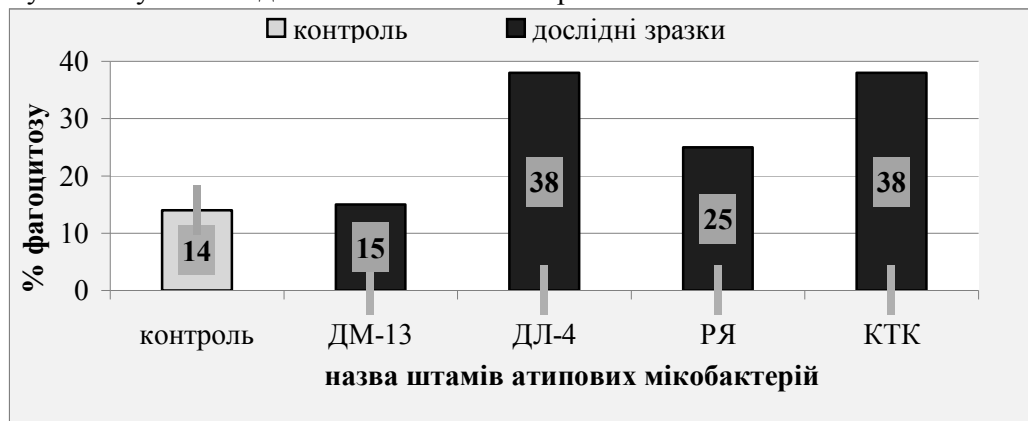


Рис.1. Вплив на фагоцитарну активність ПМЯЛ крові лабораторних тварин ферментативно-ультразвукових лізатів атипівих мікобактерій

Відомо, що представники роду *Mycobacterium* продукують лектиноподібні білки – регулятори фізіологічних процесів, в тому числі і імуногенезу, завдяки убитим нагріванням мікобактерій туберкульозу входить до загальноновизнаного комерційного препарату – ад'юванта Фрейда.

З огляду на те, що мікробні компоненти нерідко виявляють на макроорганізм реактогенну та токсичну дію проведено дослідження впливу різних концентрацій ФУЛАМ (0,75; 0,6; 0,5; 0,3; 0,2; 0,1 мг бактеріальної маси на 1см³) за внутрішньошкірних ін'єкцій лабораторним тваринам (рис.2).

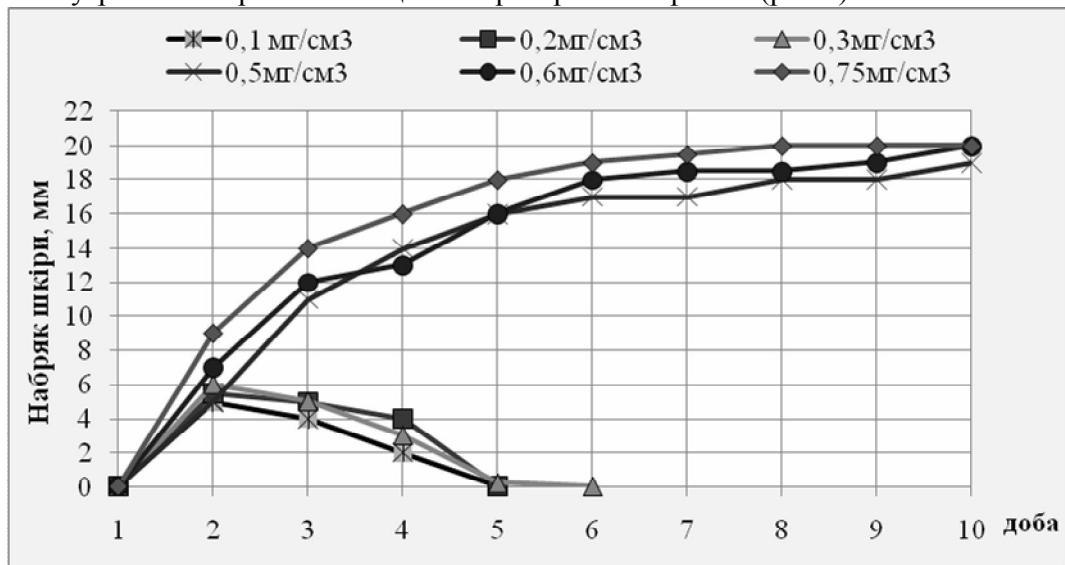


Рис.2. Реактогенна та токсична дія ФУЛАМ на організм кролів

За результатами досліджень реактогенності та токсичності концентрацій 0,75; 0,6; 0,5 мг/см³ ФУЛАМ на місці введення у кролів виявлено почервоніння

та папули діаметром до 20 мм, розсмоктування яких відбувалося пізніше десятидобового терміну спостереження.

ФУЛАМ у концентрації 0,3; 0,2; 0,1 мг/см³ викликали незначні почервоніння до 6 мм у діаметрі, які зникали на 5-6 добу.

При випробуванні фагоцитарної активності лейкоцитів крові лабораторних тварин (кролів) за впливу безпечних концентрацій ферментативно-ультразвукових лізатів атипичних мікобактерій виявлено достовірне зростання ($p < 0,05$) показників фагоцитарної системи у тварин дослідних груп.

Найбільша різниця між показниками дослідних та контрольної груп встановлена у тварин за введення ФУЛАМ у найменшій концентрації (табл.1).

Таблиця 1

Показники фагоцитарної активності ПМЯЛ організму лабораторних тварин за впливу різних концентрацій ФУЛАМ ($M \pm m$, $n=3$)

Групи тварин	Показники фагоцитарної активності		
	процент фагоцитозу	фагоцитарний індекс	фагоцитарне число
Контрольна	14,6 ± 3,07	1,46 ± 0,3	10,2 ± 0,8
I дослідна (ФУЛАМ 0,3 мг/см ³)	38,6 ± 3,89*	4,0 ± 0,3*	10,06 ± 0,77*
II дослідна (ФУЛАМ 0,2 мг/см ³)	41,3 ± 3,86*	6,1 ± 0,26*	15,03 ± 1,77*
III дослідна (ФУЛАМ 0,1 мг/см ³)	66,0 ± 9,2*	20,6 ± 3,25*	31,0 ± 0,77*

Примітка: * – різниця вірогідна відносно значень відповідного показника у контрольній групі ($p < 0,05$)

Так, найбільше достовірне зростання проценту фагоцитозу понад 51% ($p < 0,05$), фагоцитарного індексу на 19,4 одиниці ($p < 0,05$) та фагоцитарного числа – на 20,8 % ($p < 0,05$) спостерігалось у третій дослідній групі тварин за впливу суспензій ФУЛАМ у концентрації 0,1 мг/см³.

Висновки:

1. Ферментативно-ультразвукові лізати атипичних мікобактерій, виділених з біологічного матеріалу від великої рогатої худоби, підвищують активність фагоцитарної системи лабораторних тварин на 11-24 % порівняно з контролем.

2. Встановлено, що ФУЛАМ у концентраціях 0,3; 0,2; 0,1 мг/см³ не спричиняють реактогенної чи токсичної дії на макроорганізм.

3. Найвищі показники активності ПМЯЛ крові лабораторних тварин виявлені за використання суспензії ФУЛАМ у концентрації 0,1 мг/см³.

Література

1. Криштофорова Б. Неонатологія телят // Вет. Мед. України.- 1997.- № 2.- С.28-30.

2. Фукс П. Основні принципи лікування шлунково-кишкових захворювань молодняку сільськогосподарських тварин // Вет. Мед. України.- 1997.- № 2. - С.10-13.
3. Пинегин Б.В., Андропова Т.М. Некоторые теоретические и практические вопросы клинического применения иммуномодулятора ликопида //Иммунология.- 1998.- № 4.- С.60-63.
4. Науменко В., Кладницька Л. Взаємодія клітин у ході розвитку імунної відповіді // Вет. Мед. України.-1997.- № 9.- С.10.
5. Ермолаева В. В., Вейсберг Г. Е. Стимуляция неспецифической резистентности организма и бактериальные полисахариды. – М.: Медицина,1996.– 186 с.
6. Влізло В.В., Віщур О.І., Кичун І.В. та інші. Нові ефективні препарати для профілактики і лікування захворювань у тварин/ "Ветеринарна медицина".– Міжвід. темат. наук. збірник.– Вип.84.– Харків,2004.– С.169-173
7. Слободян В.И. Иммуномодуляция защитных факторов организма коров//Ветеринария. –2002. –№2. –С.29-34.
8. Кондрахин И.П., Мельник В.В., Лизогуб М.Л. Применение цитомединов при бронхопневмонии телят/ Ветеринария.– 2000.– №2. – С.39-40.
9. Зошенко В.,Співак М., Нікольський І. Тимоіндукін: фізикохімічні та біологічні властивості// Ветеринарна медицина України .-1997.–№12.–С.19-34.
10. Гунчак В.М., Грималюк Б.Т., Чайковський Б.П. та інші. Використання Ультразвукових технологій в фармації./Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2008. – Том 10, №13(38) . – Частина 1. – С.60-66.
11. Дуглас С.Д., Кук П.Г. Исследование фагоцитоза в клинической практике.–М.:Медицина, 1983. –С.152.

Summary

N.O. Kravchenko, *candidate of veterinary sciences,*

Institute of agricultural microbiology UAAS

THE INFLUENCE OF ENZYME-ULTRASONIC LISATS OF ATYPICAL MYCOBACTERIUM ON THE PHAGOCYTTIC ACTIVITY OF MACROORGANISM'S BLOOD

The influence of enzyme-ultrasonic lisats of atypical mycobacterium on rabbit`s blood phagocytic system is shown.

It is established that enzyme-ultrasonic lisats of atypical mycobacterium in concentration of 0,1 mg/cm³ significantly ($p > 0,05$) stimulate blood cell phagocytic activity of laboratory animals and are not toxic.

Key words: *atypical mycobacterium, enzyme-ultrasonic lisats, toxicity, phagocytic activity.*

Стаття надійшла до редакції 9.04.2010