

УДК 616-078:636.39:615.32

Наливайська Н. М., ст. викладач ©
Харківська державна зооветеринарна академія

ГУМОРАЛЬНІ Й КЛІТИННІ ФАКТОРИ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ЗАХИСТУ КІЗ НА ФОНІ ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ

У результаті проведених досліджень про вплив лактоаміловорина й споробактерина на гуморальні й клітинні фактори природної резистентності організму кіз зааненської породи, було встановлено, що дані препарати поліпшують показники неспецифічного захисту організму.

Ключові слова: *кози, гуморальний і клітинний захист, лактоаміловорин, споробактерин*

Вступ. Пробиотики (імунобіотики, еубіотики), препарати, що містять живі мікроорганізми, які відносяться до нормальної, фізіологічно й еволюційно обґрунтованої флори кишкового тракту. Ефективність пробіотиків пов'язана з сприятливими метаболічними змінами в травному тракті, підвищенням опірності організму, а також з антагоністичною дією на шкідливу для організму мікрофлору [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7].

Із числа пробіотичних препаратів, які застосовуються у медичній і ветеринарній практиці, велика увага приділяється пробіотикам з живих культур бактерій роду *Bacillus* і лактобацил. У той же час відомостей про вплив цих пробіотиків на організм кіз зааненської породи ми не виявили.

Матеріал і методи. Дослідження з визначення впливу встановленої нами раніше оптимальної дози лактоаміловорина й споробактерина були проведені на козах зааненської породи. Препарати вводили з розрахунку 500 млн. мікробних тіл на кг маси. Кози були розділені за принципом пар-аналогів на три групи по 4 голови у кожній. Перша група одержувала лактоаміловорин у дозі 3,0 г на тварину в добу, друга - споробактерин. Тварини контрольної групи пробіотиків не одержували. Відбір проб крові проводили перше ніж призначити козам дослідних груп пробіотики, через 7, 14 і 21 днів від початку їхнього застосування, а також через 10 днів після завершення курсу призначення препаратів. Сироватку крові одержували після ретракції кров'яного згустку. У ній фотоелектроколориметричним методом визначали гуморальні фактори неспецифічного захисту організму. Бактерицидну активність визначали за допомогою тест-культури *E. Coli*.

Бета-літичну активність виявляли фотонейтриметричним методом за О. В. Бухаріна й соавт.[8]. Як тест-культуру використовували *B. Subtilis*. Лізоцимну активність устанавлювали за О. В. Бухаріним [9] із застосуванням добової культури *Micrococcus luteus*. Фагоцитарну активність нейтрофілів крові встановлювали за методом А. І. Іванова й Б. А. Чухловіна (1976). Як тест-культуру використовували *E. Colli O₁₁₁*, вирощену протягом доби на МПА.

Результати дослідження. Роль рідинних факторів у неспецифічному захисті організму важко переоцінити. За даними таблиці 1 видно, що зміни бактеріцидної активності сироватки крові кіз першої дослідної групи, які одержували лактоаміловорин ішли по наростаючої, а другої (приймали споробактерин) - мали хвилеподібний характер.

Таблиця 1

Динаміка факторів неспецифічного захисту в піддослідних кіз при застосуванні пробіотиків

Показник	Час дослідження, через			
	7 днів	14 днів	21 день	10 днів після скасування курсу
Фон (n=4) 51,1±0,43				
БАСК, %	51,6±0,31	53,3±0,82	54,3±0,41	53,3±0,29
	<u>51,01±0,95</u>	<u>52,65±0,61</u>	<u>51,87±0,67**</u>	<u>52,00±0,81</u>
	52,5±1,52	51,5±0,96	50,3±0,52	50,50±0,29
Фон (n=4) 6,9±0,56				
ЛАСК, %	7,3±0,22	7,0±0,36	6,7±0,07	6,6±0,19
	<u>6,41±0,42</u>	<u>5,27±0,04*</u>	<u>5,95±0,46</u>	<u>6,50±0,29</u>
	6,8±0,44	6,8±0,39	6,6±0,20	6,25±0,47
Фон (n=4) 6,2±0,19				
β-літична активність, %	6,5±0,11	6,9±0,34	7,3±0,28**	7,4±0,41
	<u>5,89±0,039**</u>	<u>6,00±0,59</u>	<u>6,80±0,59</u>	<u>6,3±0,75</u>
	6,0±0,13	6,1±0,23	6,1±0,2	<u>6,2±0,16</u>

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

У чисельнику наведені значення дослідних груп, у знаменнику - контрольної.

До закінчення спостереження БАСК у тварин другої дослідної групи знизилася щодо результатів дослідження через два тижні на 1,5% ($p \leq 0,01$). У той же самий час, значення БАСК були вище в контролі на 3,12%. Хвилеподібний характер зміни рівня БАСК у другій дослідній групі може бути наслідком змінної активності інших гуморальних факторів захисту організму.

Зокрема, через два тижні від початку експерименту одночасно з підвищенням рівня бактерицидної активності крові у кіз, що отримували прибіотики, спостерігалось зниження ЛАСК щодо попереднього дослідження відповідно на 4,3 і 17,8% ($p \leq 0,05$). Наші дані погодяться з результатами А. В. Мазаєва (2003), який відзначав, що при призначенні споробактерину глибокотільним коровам відмічається зниження лізоцимної активності при одночасному збільшенні останньої в контролі. Можна припустити, що в кіз цієї дослідної групи на фоні більш високого рівня інших захисних факторів, таких як бактерицидна, бета-літична активності й т.п., не виникає потреби в інтенсивній продукції лізоциму, і, навпаки, більш низький рівень інших гуморальних факторів резистентності організму у тварин контрольної групи, стимулює даний процес.

Лізоцимна активність сироватки крові в першій дослідній групі, протягом експерименту поступово знижувалася, але була вище значень даного показника в контрольній групі, а також середнього результату тварин, що

одержували споробактерин. Останні, у свою чергу, уступали за значенням аналізованого показника представникам контрольної групи. У другий термін дослідження між значеннями тварин дослідних груп ця різниця склала 32,8% ($p \leq 0,01$), а через три тижні - на 12,6%.

О. І. Князев (2007) також відзначає достовірне збільшення БАКС і ЛАСК у сироватці крові птахів при застосуванні пробіотичного препарату коредон, одним з компонентів якого є *V. Subtilis*. Відомо, що клітинна стінка бактерій містить пептидоглікіни, які є активаторами таких факторів гуморального неспецифічного захисту організму як мурамідози, системи комплементу, інтерферону і т.п. (Герасименко В. В., 2005). Підвищення ЛАСК у тварин, що одержували споробактерин, імовірно, пов'язане зі збільшенням у них кількості рубцевої й кишкової мікрофлори.

Бета-літична активність сироватки крові кіз першої і другої дослідних груп в усі строки досліджень збільшувалася. Через один тиждень від початку експерименту бета-літична активність була вище фонових значень на 4,8 і 5,26%. До підсумкового дослідження вона зросла щодо попереднього дослідження на 1,73 і 7,2%.

Тварини, що одержували лактоаміловорин, перевершували по даному показнику кіз другої дослідної групи.

У перший термін дослідження представники першої дослідної групи перевершували аналогів по даному показнику, що одержували споробактерин, на 10,4% ($p \leq 0,01$). У другий термін дослідження ця різниця склала 15% ($p \leq 0,05$), а в підсумковий строк дослідження - 7,4%, через 10 діб після закінчення застосування пробіотиків - 17,5%.

Однак, справедливо відзначити, що збільшення бета-літичної активності спостерігалось й у контрольній групі, але в групах кіз, де застосовували пробіотики, значення даного показника були вищими.

Аналізуючи данні таблиці 2, слід відзначити, що відносна фагоцитарна активність нейтрофілів крові (ФАНК) у першій дослідній групі спочатку зростала, а потім поступово знижувалася й до підсумкового дослідження була нижче фонових даних на 2,15% і контролю - на 0,75%. Що стосується розглянутого показника в представників другої дослідної групи, то він спочатку зменшувався, потім зростав, знову знижувався й знову збільшувався. Правда, зміни при цьому були на рівні тенденцій.

Здатність до активного зближення з об'єктом у нейтрофілів у середньому на 3% була вища в представників другої дослідної групи, крім одного дослідження через два тижні, коли даний показник був вищий на 5% у контрольній групі. Через 10 днів після припинення призначення споробактерину атракція нейтрофілів у дослідній групі не відрізнялася від результату попереднього дослідження, і була дорівняна контролю.

Подальший аналіз таблиці 2 свідчить про те, що якщо в першій дослідній групі в середньому кожний четвертий зрілий нейтрофіл, що зробив фагоцитоз, перебував у стадії поглинання об'єкта, то в представників другої

дослідної й контрольної груп розглянутий показник був відповідно менший на 15,4 і 30,08%.

Таблиця 2

Зміна клітинних факторів неспецифічного захисту в підослідних кіз, що одержують пробіотики

Показник	Час дослідження, через			
	7 днів	14 днів	21 день	10 днів після скасування курсу
Фон (n=4) 71,0±1,29				
Фагоцитарна активність, %	75,5±1,89	73,5±0,96	70,5±1,71	69,5±0,96
	<u>70,0±0,82</u>	<u>71,0±2,4</u>	<u>67,5±2,06</u>	<u>68,5±1,50</u>
	69,5±1,71	69,0±1,29	68,0±2,16	68,3±0,32
Фон (n=4) 40,0±2,16				
Атракція	36,0±1,63	38,0±0,82	35,0±0,57	38,4±0,77
	<u>40,0±4,08</u>	<u>40,5±1,26</u>	<u>38,5±2,06</u>	<u>38,5±1,22</u>
	40,5±2,63	44,0±1,26	38,0±0,82	38,5±1,18
Фон (n=4) 24,0±2,45				
Поглинання	24,5±1,56	26,0±0,82	24,0±0,63	26,5±0,66
	<u>22,0±1,41</u>	<u>22,5±3,40</u>	<u>21,0±1,29</u>	<u>22,0±1,04</u>
	20,0±2,16	18,5±1,36	19,0±0,73	19,3±0,65
Фон (n=4) 7,0±0,58				
Інактивація	11,0±0,58**	9,5±1,16	10,0±0,82	9,8±0,66
	<u>8,5±1,71</u>	<u>8,5±0,50</u>	<u>8,0±0,82</u>	<u>8,0±0,27</u>
	0,0±1,29	6,5±0,96	7,0±1,29	8,3±0,72
Фон (n=4) 1,69±0,40				
Фагоцитарне число	1,73±0,03	1,6±0,45	1,57±0,56	1,53±0,03
	<u>1,67±0,11</u>	<u>1,61±0,03</u>	<u>1,70±0,53</u>	<u>1,62±0,06</u>
	1,74±0,09	1,67±0,08	1,79±0,03	1,66±0,05
Фон (n=4) 2,4±0,08				
Фагоцитарна ємність, 10 ⁹ /л	2,8±0,15	2,95±0,08	2,93±0,14	2,89±0,07
	<u>2,77±0,14</u>	<u>2,74±0,12</u>	<u>2,87±0,11*</u>	<u>2,59±0,12</u>
	2,46±0,08	2,39±0,07	2,45±0,09	2,22±0,06

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

У чисельнику наведені значення дослідних груп, у знаменнику - контрольної.

Аналогічна закономірність виявлена й по стадії інактивації фагоцитозу. У середньому за час спостереження в цій стадії перебував кожний десятий (перша дослідна група), дванадцятий (друга) і тринадцятий (контроль) зрілий нейтрофіл. Причому розходження між показником першої групи й фоном у перший тиждень досягли істотних величин ($p \leq 0,01$).

Що ж стосується інтегрального показника клітинного неспецифічного захисту - фагоцитарної ємності крові, то вона повторює вже описані закономірності. А саме найбільшим (2,89 Г мікробних тіл/мл) вона була у кіз, що одержували лактоаміловорин, на 0,15 Г м.т. /мл менше в представників другої дослідної групи й на 0,51 Г м. т. /мл - у контролі. Важливо відзначити, що через три тижні розходження у розглянутому параметрі в контрольній і другій дослідних групах стали достовірними ($p \leq 0,05$).

Фагоцитарна активність макро- і мікрофагів є одним з головних ланок неспецифічного захисту організму. Це пов'язане з поліпотентністю функцій подіморфноядерних лейкоцитів і клітин мононуклеарної системи, що фагоцитують. Вони не тільки здійснюють фагоцитоз і ряд інших специфічних функцій, але і є основними продуцентами лейкоїнів, деяких фракцій комплементу, лізоциму, інтерферону, сприяють реалізації імунної відповіді. Вивчаючи фагоцитоз овець і великої рогатої худоби, І. В. Лушников і В. М. Мешков (1979) звернули увагу на ідентичність сезонних коливань фагоцитозу в цих видів тварин. Як правило, яскравіше всього фагоцитарна активність нейтрофілів проявляється восени й на початку зими, гірше - навесні, мінімально - улітку.

Висновки. 1. У результаті вивчення впливу лактоаміловорина й споробактерина на гуморальні фактори природної резистентності організму кіз, було встановлено, що дані препарати поліпшують показники неспецифічного захисту організму, а саме, благотворно впливають на бактерицидну, лізоцимну й бета-літичну активності сироватки крові, а також викликають ріст нейтрофілів крові.

2. Лактоаміловорин і споробактерин оказують активуючу дію на клітинні фактори неспецифічного захисту організму кіз.

Література

1. Антипов В. А. Использование пробиотиков в животноводстве / В. А. Антипов // Ветеринария. – 1991. - №4. - С. 55-58.
2. Salminen S. Demonstration of safety of probiotics – a review / S. Salminen, A. von Wright // Int. J. Food Microbiol. – 1998. – 44(2). – P.93-106.
3. Davidson G. P. Probiotics in pediatric gastrointestinal disorders / G. P. Davidson, R. N. Butler // Curr. Opin. Pediatr. – 2000. Oct; 12(5): 477-81.
4. Gionchetti P. Probiotics in infective diarrhea and inflammatory bowel diseases / P. Gionchetti, F. Rizzello, A. Venuturi, M. Campieri // J. Gastroenterol Hepatol. - 2000. - May; 15(5): 489-93.
5. Стегний Б. Т. Перспективы использования пробиотиков в животноводстве / Б. В. Стегний, С. А. Гужвинская // Ветеринария. - 2005. - №1. - С. 3-6.
6. Titta J. K. Alteration of Canine Small-Intestinal Lactic Acid Bacterium Microbiota by Feeding of Potential Probiotics / J. K. Titta, L. Minna // Microbiol. - 2006. - Vol. 72(10). - P. 6539-6543.
7. Wynn S. G., Probiotics in veterinary practice. //J. Am. Vet. Med. Assoc. - 2009. - Vol. 234(5). - P. 606-13.
8. Бухарин О. В. Ускоренный метод определения бета-лизинов в сыворотке крови / О. В. Бухарин, Б. В. Флоров, А. П. Луда // Микробиология, эпидемиология и иммунология - 1972. - №2. - С.42.9.
9. Бухарин О. В. Фотонейтриметрический способ определения бактерицидной активности сыворотки крови / О. В. Бухарин, В. Л. Созыкин // Факторы природного иммунитета. - Оренбург, 1972. - С. 43-45.

Рецензент – д.вет.н., профессор Головач П.І.