

УДК 577.1:636.09.616.99

ГУНЧАК В.М., д-р вет. наук, професор

КРИШТАЛЬСЬКА М.О., аспірантка

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ТА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ КУРЧАТ, УРАЖЕНИХ ЕЙМЕРІОЗО-АСКАРИДІОЗНОЮ ІНВАЗІЄЮ

У статті показано зміни біохімічного складу крові курчат за експериментальної інвазії, які відображають розвиток патологічних та імунних процесів і вказують на стресовий стан організму, що дає змогу об'єктивно оцінити вплив різноманітних факторів на організм інвазованих курчат. За еймеріозної інвазії у сироватці крові курчат встановлено зниження як клітинного, так і гуморального імунітетів, на що вказує зниження Т- і В-лімфоцитів, бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові досліджуваних курчат.

Ключові слова: паразитологія, кров, курчата, Т- і В-лімфоцити, бактерицидна активність сироватки крові, лізоцимна активність сироватки крові, циркулюючі імунні комплекси.

Постановка проблеми. Птахівництво – одна з найбільш інтенсивних галузей сільськогосподарського виробництва. Біологічні особливості курей сприяють порівняно швидкому отриманню м'ясної та яєчної продукції, що зумовлює її високу рентабельність та окупність. Проте, розвиток птахівництва стримують паразитарні хвороби, які набули широкого розповсюдження і завдають значних економічних збитків спеціалізованим, фермерським та присадибним господарствам. Особливого значення набувають питання всебічного вивчення інвазійних захворювань [1–4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Однією із перешкод, що гальмує розвиток птахівництва, є еймеріоз та аскаридіоз. Спостерігаються ці хвороби у молодяку птиці до 2–3-місячного віку. Проявляються вони пригніченням, проносами, кал часто з домішками крові, схудненням [5–7]. Загибель птиці може сягати 50–70 % від кількості захворілих, несучість починається на 1–2 місяці пізніше та є значно нижчою порівняно з несучістю здорової неперехворілої птиці. Джерелом інвазії є хворі курчата, а також доросла птиця, яка часто є носієм збудників інвазії [8–10].

Серед безлічі факторів, що характеризують перебіг інвазійних захворювань, особливе місце займає імунітет – стан специфічної несприйнятливості організму до дії хвороботворних організмів і продуктів їх життєдіяльності, а також інших чужорідних речовин. Імунітет пов'язаний з проявом комплексу фізіологічних захисних реакцій, які забезпечують певну сталість внутрішнього середовища організму.

Мета і завдання досліджень – вивчення клітинного та гуморального імунітету у курчат, уражених еймеріозо-аскаридіозною інвазією.

Матеріали і методи досліджень. Для вирішення поставлених завдань було сформовано три групи курчат: контрольну та дві дослідні, за принципом аналогів, враховуючи масу тіла та фізіологічний стан. Кожна група складалася з восьми курчат віком 4 тижні на початок експерименту.

Курчата контрольної групи – інтактні, першої дослідної були уражені еймеріозною інвазією, а другої дослідної – еймеріозо-аскаридіозною.

Матеріалом для біохімічних досліджень слугували відібрані проби крові із *vena axillaris* на 7, 14, 21 та 28-му доби після зараження. Відбір проб крові проводили з дотриманням усіх правил асептики та антисептики.

Із гуморальних показників резистентності досліджували бактерицидну активність сироватки крові за методом О.В. Смирнової та Т.А. Кузьміної, лізоцимну (ЛАСК) – фотоелектроколориметричним методом [11]; циркулюючі імунні комплекси визначали за методом Гриневича і Альферова [12].

Загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУК) досліджували методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана за М. Jondal et al. (Чумаченко В.Е. и др.), загальну кількість

В-лімфоцитів – за N.F. Mendes et al. [11].

Результати досліджень та їх обговорення. Імунітет (лат. *immunitas* – звільнення) – це здатність організму протидіяти різним шкідливим факторам навколишнього середовища. Основними клітинами імунітету, що здійснюють зв'язок і взаємодію всіх органів імунної системи, є лімфоцити. Продукція Т- і В-лімфоцитів є фізіологічним процесом, який протікає і за відсутності антигенної стимуляції, але залежить від надходження стовбурових клітин з кісткового мозку. В-лімфоцити, включаючись в

реакції імунної системи після контакту з антигеном, проліферують і диференціюються в плазматичні клітини, які продукують імуноглобуліни трьох класів (А, М і G), що є ефекторами гуморальної ланки імунітету. Одним з основоположних механізмів функціонування системи імунітету є взаємодія трьох типів клітин – макрофагоцитів, Т- і В-лімфоцитів.

Важливе значення у розвитку еймеріозо-аскаридіозної інвазії має дослідження клітинного імунітету, який представлений Т- і В-лімфоцитами. Результати досліджень клітинного імунітету у курей за умов розвитку еймеріозо-аскаридіозної інвазії наведені у таблиці 1.

За дослідження величин показників клітинного імунітету встановлено, що у хворих курчат кількість Т- і В-лімфоцитів протягом усього досліду знижувалася: у курчат, які були уражені еймеріозною інвазією (Д₁), частка Т-лімфоцитів на 7-му добу досліду знизилася на 1,0 %, 14-ту – 1,8 % порівняно з початковою. Надалі відносна кількість Т-лімфоцитів у курчат групи Д₁ продовжувала знижуватися і найменшою була на 21 добу досліду – 10,5±0,27 %, різниця з контрольною групою курчат становила 2,3, а початковою – 2,4 %. На 28-му добу досліду частка Т-лімфоцитів у крові дослідної групи курчат Д₁ залишалася на низькому рівні.

Відносна кількість Т-лімфоцитів у курчат, які були уражені еймеріозо-аскаридіозною інвазією, була меншою, порівняно з показниками контрольної групи, на 7-му добу – на 1,5 % (p<0,01), 14-ту – 2,3 (p<0,01) і 21-шу – 2,7 % (p<0,001). На 28-му добу досліду встановлено збільшення частки Т-лімфоцитів, порівняно з попереднім, на 0,6 %, однак вона залишалася меншою, ніж у контролі, на 2,2 %.

Таблиця 1 – Показники клітинного імунітету курей, уражених еймеріозо-аскаридіозною інвазією

Група	До зараження	Доби дослідження після зараження дослідних курчат			
		7	14	21	28
Т-лімфоцити, у процентах					
К	12,8±0,35	12,9±0,31	13,1±0,28	12,8±0,40	12,9±0,25
Д ₁	12,9±0,30	11,9±0,25*	11,1±0,24**	10,5±0,27**	10,9±0,28***
Д ₂	13,0±0,25	11,4±0,30**	10,8±0,31**	10,1±0,30***	10,7±0,30***
В-лімфоцити, у процентах					
К	17,6±0,55	17,4±0,65	17,5±0,58	17,3±0,60	17,2±0,55
Д ₁	17,3±0,60	16,6±0,50	15,8±0,52*	14,9±0,54*	15,4±0,52*
Д ₂	17,4±0,65	16,2±0,55	15,4±0,55*	14,5±0,53**	15,2±0,54*

Примітка. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 порівняно з даними контрольної групи.

Відносна кількість В-лімфоцитів на початку досліду у крові курчат коливалася у межах 17,3±0,60–17,6±0,55 %. Після ураження еймеріозо-аскаридіозною інвазією у крові курчат відмічали тенденцію до зниження кількості В-лімфоцитів вже на 7-му добу досліду.

На 14-ту добу кількість В-лімфоцитів продовжувала зменшуватися у курчат обох дослідних груп, однак слід відзначити, що за ураження одночасно еймеріозною та аскаридіозною інвазіями їх частка була дещо меншою, ніж у крові курчат, уражених тільки еймеріозною інвазією. На 21-шу добу досліду кількість В-лімфоцитів у крові курчат обох дослідних груп була найменшою і становила відповідно 14,9±0,54 і 14,5±0,53 %.

Отже, ураження курчат еймеріозною та аскаридіозною інвазіями супроводжується пригніченням клітинного імунітету. Зменшення кількості Т- і В-лімфоцитів у крові інвазованих курчат вказує на пригнічення лімфоїдної системи імунітету і зниження резистентності організму проти бактеріальних і вірусних інфекцій. Також необхідно зазначити, що за еймеріозної та аскаридіозної інвазій активізується вірулентність сапрофітної мікрофлори кишечника, яка також пригнічує систему клітинного імунітету.

Гуморальні фактори протиінфекційного захисту птиці являють собою різні білки, розчинені в крові і рідинах організму. Вони можуть самі мати антимікробні властивості чи здатні активувати інші гуморальні та клітинні механізми протиінфекційного імунітету. Відомо, що гуморальний імунітет забезпечується специфічними макромолекулами, які функціонують у внутрішніх рідинах організму птиці.

Як видно із таблиці 2, за еймеріозної і еймеріозо-аскаридіозної інвазій у курчат антимікробна активність сироватки крові у перші доби дослідження знижується, на що вказує зменшення бактерицидної та лізоцимної активності. Так, на 7-му добу досліду бактерицидна активність сироватки крові хворих курчат дослідної групи Д₁ зменшилася на 5,7 %, тоді як лізоцимна мала лише подібну тенденцію.

Таблиця 2 – Показники гуморального імунітету курей, уражених еймеріозо-аскаридіозною інвазією

Група	До зараження	Доби дослідження після зараження дослідних курчат			
		7	14	21	28
БАСК, у процентах					
К	87,0±1,30	86,8±1,25	87,2±1,30	86,9±1,35	87,3±1,25
Д ₁	86,9±1,25	81,1±1,20**	74,2±1,25***	70,1±1,21***	71,5±1,22***
Д ₂	87,1±1,30	79,5±1,22**	72,6±1,20***	68,2±1,23***	70,1±1,25***
ЛАСК, у процентах					
К	6,21±0,45	6,32±0,42	6,25±0,40	6,30±0,42	6,28±0,45
Д ₁	6,30±0,42	5,99±0,40	5,67±0,38	5,21±0,40	5,53±0,35
Д ₂	6,27±0,40	5,84±0,45	5,55±0,35	5,11±0,35*	5,46±0,40
ЦІК, у процентах					
К	32,2±1,80	32,1±1,50	32,5±1,70	32,4±1,50	32,5±1,60
Д ₁	32,5±1,60	34,4±1,40	36,8±1,60	40,1±1,50**	38,7±1,20*
Д ₂	32,3±1,50	35,1±1,50	38,2±1,40*	41,5±1,30**	39,1±1,50**

Примітка. Ступінь вірогідності порівняно з даними контрольної групи: $p < 0,05$ – *, $p < 0,01$ – **.

Надалі антимікробна активність сироватки крові курчат, які були уражені еймеріозною інвазією, продовжувала поступово знижуватися, що вказує на пригнічення фізіологічного стану гуморальної ланки імунітету. На 21-шу добу досліду бактерицидна активність сироватки крові у курчат групи Д₁ становила 70,1±1,21 % ($p < 0,001$), а лізоцимна – 5,21±0,40 % ($p < 0,1$). Найнижчу антимікробну активність встановлено на 21 і 28-му доби досліду, де, порівняно із початковими величинами, бактерицидна активність знизилася на 16,8 і 15,4 %. Лізоцимна активність сироватки крові більш стабільна і вірогідних змін її показників нами не встановлено.

У дослідній групі курчат, які були уражені еймеріозо-аскаридіозною інвазією, на 7-му добу досліду встановлено зниження бактерицидної активності сироватки крові на 7,3 % відносно контрольної групи курчат. Лізоцимна активність сироватки крові залишилася без змін. На 14-ту добу досліду бактерицидна активність сироватки крові курчат другої дослідної групи продовжувалася знижуватися і найменшою вона була на 21-шу добу (68,2±1,23 %; $p < 0,001$). Подібні зміни лізоцимної активності сироватки крові – різниця з показником контрольної групи курчат становила 1,19 % ($p < 0,05$).

За фізіологічних умов присутність циркулюючих імунних комплексів у рідинах є одним із проявів імунної відповіді організму птиці на надходження антигенів та важливим чинником, що забезпечує імунітет. Утворені імунні комплекси, за цих умов, деякий час циркулюють у лімфі і крові, після чого відбувається їх елімінація.

Аналіз отриманих даних вказує на те, що рівень циркулюючих імунних комплексів у контрольній та двох дослідних групах на початку досліду коливався у межах 32,2±1,8–32,5±1,6 %. У курчат, які були уражені еймеріозною інвазією, рівень циркулюючих імунних комплексів поступово зростав і вірогідною різниця була на 21-шу добу: вона склала 7,7 % порівняно з показником контрольної групи ($p < 0,01$). У курчат, уражених еймеріозо-аскаридіозною інвазією (друга група), зростання рівня циркулюючих імунних комплексів більш інтенсивне і вже на 14-ту добу різниця з показником у курчат контрольної групи становила 5,7 % ($p < 0,05$). На 21-шу добу досліду встановлено найвищий рівень циркулюючих імунних комплексів у курчат цієї групи: різниця з контрольними склала 9,1 % ($p < 0,01$). На 28-му добу досліду рівень циркулюючих імунних комплексів почав дещо знижуватися, однак, порівняно з контрольними величинами, він залишався на високому рівні, що вказує на пригнічення імунореактивної системи організму внаслідок приєднання специфічних антитіл до продуктів метаболізму за умов еймеріозо-аскаридіозної інвазії.

Висновки. 1. У результаті проведених досліджень нами встановлено, що у курчат, уражених еймеріозо-аскаридіозною інвазією, настає пригнічення клітинного і гуморального імунітету, розвивається вторинний імунodefіцит, на що вказує зниження бактерицидної активності сироватки крові в інвазованих курчат на 21-шу добу на 8,7 % ($p < 0,001$), лізоцимної – 1,9 ($p < 0,05$).

2. Зменшення кількості Т- і В-лімфоцитів у крові курчат, що інвазовані еймеріями і аскаридіями, вказує на пригнічення клітинної системи імунітету та зниження резистентності організму проти бактеріальних і вірусних інфекцій, що, очевидно, може активізувати патогенність сапрофітної мікрофлори кишечника, яка також пригнічує систему клітинного та гуморального імунітету.

3. Високий рівень ЦІК у сироватці крові курчат вказує на пригнічення імунореактивної системи організму внаслідок приєднання специфічних антитіл до продуктів метаболізму еймерій і аскаридій, що виступають у ролі антигенів.

4. Зміни клітинного і гуморального імунітету слугують важливим об'єктивним показником стану організму курчат як за норми, так і патології. Визначення цих показників у крові має надзвичайно важливе значення, оскільки саме їх рівень характеризує стан здоров'я курчат.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аринкин А.В. Влияние смешанных инвазий на иммунный статус кур / А.В. Аринкин // Птицеводство. – 1999. – № 4. – С. 36–37.
2. Вагабов В.Б. Сравнительная эффективность комплексных соединений при эймериозе кур / В.Б. Вагабов, Ю.П. Илюшечкин, А.Д. Алиев // Ветеринария. – 1991. – № 8. – С. 34–35.
3. Илюшечкин Ю.П. Кокцидиозы в промышленном птицеводстве [Текст] / Ю.П. Илюшечкин // Птицеводство. – 1992. – № 1. – С. 22–23.
4. Karamon J. Prevalence of coccidian invasions in suckling piglets and sows in Poland / J. Karamon, J. Liomko // Med. veter. – 2006. – Vol. 62, № 3. – P. 294–296.
5. Эймериоз птиц (*eimeriosis*) // WEBMWC.com Московский ветеринарный веб-центр. [Электронный ресурс] – Режим доступа. – URL: <http://webmvc.com/bolezni/livestock/invasion/protozoa/eimerp.php> (дата обращения 12.07.2013).
6. Сандул А.В. Проблема эймериоза в бройлерном птицеводстве / А.В. Сандул // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства: матер. III Межд. науч.-практич. конф. – Витебск, 2003. – С. 204–205.
7. The Eimeria genome projects: a sequence of events / [M.W. Shirley, A. Ivens, A. Gruber et al.] // Trends Parasitol. – 2004. – Vol. 20. – P.199–201.
8. Демина Н.В. Источники заражения кур эймериями / Н.В. Демина // Энтомол. и паразитол. исследования в Поволжье / Саратов: Саратов. гос. ун-т, 2003. – Вып. 2. – С. 113–114.
9. Chapman, H.D. Origins of coccidiosis research in the fowl the first fifty years / H.D. Chapman // Avian Diseases. – 2003. – Vol. 47. – P. 1–20.
10. Chapman, H.D. Sensitivity of field isolates of Eimeria from two broiler complexes to anticoccidial drugs in the chicken [Text] / H.D. Chapman, A.B. Hacker // Poult. Sci. – 1994. – № 73. – P. 1404–1408.
11. Методические указания к физико-химическим, морфологическим, биохимическим и иммунологическим исследованиям крови сельскохозяйственных животных / [В.Е. Чумаченко, Н.А. Судаков, В.И. Береза и др.]. – Киев, 1991. – 180 с.
12. Гриневич Ю.А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных / Ю.А. Гриневич, Н.И. Альферов // Лаб. дело. – 1981. – С. 493–495.

Показатели клеточного и гуморального иммунитета цыплят, пораженных эймериозо-аскаридозной инвазией В.М. Гунчак, М.О. Криштальская

В статье показаны изменения биохимического состава крови цыплят при экспериментальной инвазии, отображающие развитие патологических и иммунных процессов, что указывает на стрессовое состояние организма и дает возможность объективно оценить влияние разнообразных факторов на организм инвазированных цыплят. При эймериозной инвазии в сыворотке крови цыплят установлено снижение как клеточного, так и гуморального иммунитета, на что указывает снижение Т- и В-лимфоцитов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови исследуемых цыплят.

Ключевые слова: паразитология, кровь, цыплята, Т- и В-лимфоциты, бактерицидная активность сыворотки крови, лизоцимная активность сыворотки крови, циркулирующие иммунные комплексы.