

УДК 619:616.98:578.824.11:616-036.22

А. П. НІКІТОВА, аспірант

В. В. НЕДОССКОВ, доктор ветеринарних наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України,

С. А. НИЧИК, доктор ветеринарних наук

І. М. ПОЛУПАН, кандидат ветеринарних наук

М. Ю. ІВАНОВ, кандидат ветеринарних наук

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

МОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА АНТИРАБІЧНОЇ ВАКЦИНАЦІЇ В УМОВАХ СТРЕСУ

У статті представлені результати дослідження морфологічних показників крові морських свинок, яких імунізували антирабічною вакциною «Рабістар» та піддавали дії стресових факторів (холодовий, тепловий та аліментарний стрес). Результати досліджень крові морських свинок при дії різних стрес-факторів свідчать про розвиток стану імунної недостатності, який проявлявся пригніченням клітинної ланки імунної відповіді.

Ключові слова: стрес, антирабічна вакцина, морфологічні показники крові, морські свинки.

На сьогоднішній день основним та найбільш ефективним методом контролю захворювання на сказ є специфічна профілактика. У забезпеченні високого рівня антирабічного захисту провідну роль відіграють два фактори: рівень антитіліндукуючого антигену у вакцинах і формування імунної відповіді у тварин [1]. Останнє залежить від імунного статусу, реактивності організму та впливу на нього стресових факторів. До цього також слід віднести індивідуальну чутливість тварин, що зумовлює гетерогенність популяційного імунітету, не зважаючи на однакові умови проведеної імунізації [2].

За даними вітчизняних дослідників відомо, що різні види стресу викликають у тварин односпрямовані відхилення клітинних та гуморальних показників, які вказують на порушення функціонування імунної системи організму. Внаслідок цього знижується ефективність вакцинації проти інфекційних хвороб [3]. Також слід зазначити, що ступінь відхилення окремих показників істотно залежить від факторів, які спричиняють нервово напруження у тварин. Вплив стресу на організм достатньо великий, однак він мало вивчений в умовах проведення вакцинацій.

Враховуючи вищевказане, **метою** нашої роботи було дослідити гематологічні показники при антирабічній вакцинації в умовах стресу, використовуючи в якості лабораторної моделі морських свинок.

Матеріали і методи дослідження. Дослід проводили на 16 безпородних морських свинках, віком 6-8 місяців, масою тіла 600-700 г, яких розділили на чотири дослідних групи, по 4 тварини у кожній. Усі групи тварин піддали внутрішньом'язовій імунізації вакциною «Рабістар» (виробник Укрветпромпочтач), в об'ємі 0,25 см³. Протягом 27 діб, після вакцинації, три дослідні групи тварин піддавали стресовим факторам: першу групу тварин – впливу високої температури

(32 ± 2 °C), другу групу – впливу зниженої температури (12 ± 2 °C), третю – аліментарному стресу, згідно методики [4]. Четверта група тварин була контрольною (без нервового напруження). Кров для досліджень відбирали до введення вакцини та на 7, 14, 21, 27 та 41 добу з моменту вакцинації. Показники крові (еритроцити, гемоглобін, гематокрит, лейкоцити та кров'яні пластинки) визначали за допомогою гематологічного аналізатора MYTHIC 22, виробництва фірми C2 Diagnostics (Франція).

Отримані результати досліджень обробляли з використанням загальноприйнятих статистичних методів, використовуючи комп'ютерну програму MS Excel.

Результати дослідження. На початку дослідження показники крові (еритроцити, гемоглобін, показник гематокриту, лейкоцити та кров'яні пластинки) морських свинок усіх дослідних груп були у межах фізіологічних коливань [5].

При дослідженні кількості еритроцитів на сьому добу від початку досліджень у тварин I, III та IV груп відмічали зростання їх кількості у периферичній крові, порівняно з початковими показниками (Табл.1).

Таблиця 1

Кількість еритроцитів в крові морських свинок, 1×10^{12} в 1 дм^3
($M \pm m$, $n=4$)

Групи тварин	Доба відбору крові					
	1	7	14	21	27	41
I група (холодовий стрес)	5,2±0,01	6,01±0,25 °	4,7±0,10 °	4,9±1,18	3,8±0,78 *	5,8±0,48 °
II група (тепловий стрес)	5,2±0,33	4,6±0,39 *	4,5±0,65	4,9±0,39	4,8±0,80	5,1±0,43
III група (аліментарний стрес)	5,4±0,63	6,2±0,30 °	5,6±0,26 °	5,9±0,15	5,2±0,09	4,6±0,50
IV група (контроль)	5,4±0,33	6,3±0,22 °	6,3±0,46	6,0±0,57	5,9±0,37	5,6±0,39

Примітки: ° – різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при $p \leq 0,05$;

* – різниця достовірна відносно контролю (IV група) при $p \leq 0,05$.

Так, у тварин I групи концентрація еритроцитів збільшилась на 15,6 %, III групи – на 14,8 %, а тварин IV групи на 16,7 %. Однак, у II групі тварин встановлено тенденцію до зменшення концентрації еритроцитів на 11,0 %. Дослідження крові на 14 добу в I та III групах тварин показало статистично достовірне зниження показників кількості еритроцитів (на 22,5 і 9,9 %) порівняно із показниками на 7 добу. На 27 добу відмічена тенденція до зниження числа еритроцитів у I та III групі тварин, а саме на 22,6 та 12,3 % відповідно. Крім того, в крові тварин I групи кількість еритроцитів була на 35,6 % нижче цього ж показника контрольної групи IV. Проте на 41 добу (після 14 діб припинення дії стресових факторів) у I групі тварин кількість червоних клітин крові зросла на 52,2 %.

Збільшення кількості еритроцитів у тварин на 7 добу можна пояснити введенням тваринам антирабійної вакцини та забором крові перед початком досліджень, які виступають у якості стрес-факторів для дослідних тварин. Виключенням були морські свинки II групи, у яких тепловий стрес спричинив часткове блокування еритроцитопоезу. Зменшення кількості червоних клітин крові на 27 добу у I і III групах, порівняно з попередніми результатами, пояс-

нюється зниженням інтенсивності обміну речовин за недостатньої годівлі та, особливо, дії низьких температур. Тварини II групи ймовірно пройшли пристосувальні реакції, тому упродовж періоду теплового стресу показники кількості еритроцитів не змінювались.

На кінець досліду у перших двох групах тварин ми відмічали відновлення стану еритроцитопоезу (після двохтижневої реабілітації). У морських свинок за аліментарного стресу по закінченню досліджень таких змін не спостерігали. Кількість еритроцитів продовжувала знижуватись, що можна пояснити недостатнім забезпеченням пластичним та стимулюючим еритроцитопоез матеріалом.

При дослідженні концентрації гемоглобіну в крові вже на 7 добу встановлено тенденцію до його збільшення у тварин I, III та IV груп (порівняно із показниками на початку досліду) (Табл.2).

Таблиця 2

Кількість гемоглобіну в крові морських свинок після антирабічної вакцинації, г/дм³ (M±m, n=4)

Групи тварин	Доба відбору крові					
	1	7	14	21	27	41
I група (холодовий стрес)	14,4±0,39	15,4±0,67	13,3±0,58 °	15,73±2,16	12,2±2,10 °	15,8±1,59
II група (тепловий стрес)	14,0±0,54	12,0±1,13*	13,4±3,13	14,55±0,76	13,2±1,92 °	14,1±1,37
III група (аліментарний стрес)	14,5±1,66	16,5±0,83	14,7±0,84 °	15,56±0,46	13,6±0,15 °	12,3±1,42
IV група (контроль)	14,7±0,85	17,0±0,27	16,9±1,27	16,5±1,58	15,6±1,16	15,4±1,18

Примітки: ° – різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при $p \leq 0,05$;

* – різниця достовірна відносно контролю (IV група) при $p \leq 0,05$.

У тварин I, III та IV групи показник збільшився на 6,9; 13,7 та 15,6 % відповідно. А у II групі тварин даний показник зменшився на 14,3 %. Достовірно встановлено, що на 7 добу в крові тварин групи II кількість гемоглобіну була нижчою порівняно з показником контрольної групи IV. Проте на 14 добу відмічено достовірне зменшення цього показника у I, III групах тварин (на 13,6 і 10,9 %) та тенденцію до збільшення у II групі тварин (на 11,7 %) порівняно із показниками на 7 добу. Аналізуючи показники крові на 27 добу встановлено достовірне зменшення концентрації гемоглобіну у тварин I, II та III груп на 22,8; 9,3 та 12,6 % відповідно. На 41 добу встановлено тенденцію до збільшення показника у I і II групі тварин (на 29,5 і 6,8 %) та зменшення у тварин III групи (на 9,7 %) порівняно із показниками на 27 добу.

Показники концентрації гемоглобіну у крові морських свинок після антирабічної вакцинації за умов стресу мали аналогічні зміни як і кількість еритроцитів.

При дослідженні та аналізі показників крові встановлено на 7 добу тенденцію до збільшення гематокритної величини у тварин I групи (на 8,7 %), III (на 14,1 %) та IV (на 15,1 %) порівняно з показниками на початку досліду. У II групі тварин ця величина зменшилась на 11,5 % (Табл.3).

**Кількість гематокриту в крові морських свинок
після антирабічної вакцинації, % (M±m, n=4)**

Групи тварин	Доба відбору крові					
	1	7	14	21	27	41
I група (холодовий стрес)	43,4±0,93	47,2±1,90	37,2±1,30°/*	47,6±8,60	31,2±6,27°/*	47,9±4,40 °
II група (тепловий стрес)	41,9±0,16	37,1±3,00*	47,8±5,80	45,5±2,28	40,5±4,99	42,3±4,00
III група (аліментарний стрес)	42,7±4,99	48,7±2,28	43,1±2,21	44,4±1,45	39,6±0,47°/*	36,9±4,17
IV група (контроль)	43,6±2,17	50,2±0,83	51,3±3,63	50,7±4,49	49,8±3,17	46,1±3,24

Примітки: ° – різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при $p \leq 0,05$;

* – різниця достовірна відносно контролю (IV група) при $p \leq 0,05$.

При дослідженні крові на 14 добу було встановлено зменшення показника гематокриту у тварин III групи (на 11,4 %) та збільшення його у тварин II групи (на 28,8 %) порівняно з показником на 7 добу. Достовірно встановлено зменшення гематокриту у крові тварин I групи (на 21,1 %). При дослідженні даного показника на 27 добу було встановлено достовірне його зниження у тварин I і III груп із результатом – 31,2±6,27 та 39,6±0,47, що наближено до нижньої межі норми. При дослідженні крові на 41 добу встановлено збільшення гематокритної величини у I групі (на 53,6 %) та тенденцію до зменшення у III і IV групах тварин (на 7,0; 7,4 % відповідно) порівняно з результатами на 27 добу.

При аналізі результатів Таблиці 3, відмічено коливання гематокритної величини протягом усього періоду дослідження (за різних стресових факторів), яке залежало від кількості еритроцитів у крові тварин. Різке підвищення гематокриту у морських свинок пояснюється виходом у кров'яне русло великої кількості більших за діаметром молодих форм клітин червоної крові.

Враховуючи роль лейкоцитів у формуванні імунної відповіді при вакцинації тварин, для нас представляло науковий інтерес дослідити загальну кількість лейкоцитів в крові морських свинок при дії різних стресових факторів (Табл.4).

Таблиця 4

**Кількість лейкоцитів в крові морських свинок після антирабічної
вакцинації, 1×10^9 в 1 дм^3 (M±m, n=4)**

Групи тварин	Доба відбору крові					
	1	7	14	21	27	40
I група (холодовий стрес)	8,0±0,20	11,9±0,52 °	7,9±0,15°/*	6,8±0,83 °	3,6±2,10 °/*	6,7±0,40°
II група (тепловий стрес)	8,3±0,18	10,1±0,74 °	11,8±2,49	6,6±0,72 °	4,4±1,25 °/*	6,7±1,41°
III група (аліментарний стрес)	7,3±0,57	7,3±1,10	6,3±0,35°/*	5,1±0,33 °/*	4,6±0,84 *	5,6±0,26*
IV група (контроль)	8,4±1,17	9,2±1,18	9,1±1,01	7,0±1,53	6,8±0,85	7,6±0,62

Примітки: ° – різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при $p \leq 0,05$;

* – різниця достовірна відносно контролю (IV група) при $p \leq 0,05$.

Аналізуючи отримані результати на 7 добу у I, II групі тварин відмічено зростання лейкоцитів – $11,9 \pm 0,52$; $10,1 \pm 0,74$, що на 49,9 та 21,4 % більше порівняно із початковими даними та є ознакою реакції організму на введення вакцини, а також ознакою розвитку стрес-реакцій, проте, вони не виходили за межі норми. В контрольній групі тварин відмічено лише тенденцію до зростання кількості лейкоцитів з показником $9,2 \pm 1,18$ Г/дм³, що на 8,9 % більше порівняно із початковими даними.

На 14 добу було встановлено зменшення лейкоцитів крові у I та III групах тварин (на 34,0 і 13,2 %). А у II групі тварин було відмічено тенденцію до подальшого збільшення лейкоцитів на 16,6 %. Крім того, достовірно встановлено, що в I та III групах тварин загальна кількість лейкоцитів була меншою на 13,2 та 30,8 % порівняно з контрольною групою тварин.

Аналіз показників загальної кількості лейкоцитів у крові морських свинок на 21 добу після імунізації показав в усіх трьох групах тварин, які перебували в умовах стрес-факторів, зниження показників відносно результатів дослідження на 14 добу, а саме на 14,0 % в I групі, на 44,1 % в II групі та на 19,4 % в III групі тварин. Крім того, в третій групі тварин була відмічена лейкоцитопенія з результатом – $5,1 \pm 0,33$ Г/дм³, що на 7,6 % менше за нижню межу норми. В контрольній групі тварин при дослідженні крові на 21 добу також встановлено тенденцію до зниження загальної кількості лейкоцитів, що є наслідком введення в організм антирабичної вакцини.

При дослідженні загальної кількості лейкоцитів в крові морських свинок на 27 добу після введення вакцини встановлено лейкоцитопенію у I, II та III дослідних групах тварин, показники яких на 47,6, 32,3 та 9,1 % менші за показники на 21 добу та на 35,4, 19,1 і 16 % менше за нижню межу норми. Порівняно з контрольною групою тварин кількість лейкоцитів в I, II та III групі достовірно менша на 48,2, 35,0 та 32,6 % відповідно.

На 41-у добу після вакцинації, тобто після 14-и діб припинення дії стресових факторів, загальна кількість лейкоцитів у I та II групі тварин достовірно збільшилась (на 88,7 та 50,6 %) порівняно із показником на 27 добу. А у тварин III групи відмічена тенденція до збільшення кількості лейкоцитів, однак враховуючи важкість тривалого аліментарного стресу у тварин встановлена лейкоцитопенія з показником $5,6 \pm 0,26$. Результати досліджень загальної кількості лейкоцитів в крові морських свинок при дії різних стресів свідчать про розвиток стану імунної недостатності, який проявляється пригніченням клітинної ланки імунної відповіді, тобто лейкоцитопенією.

Наступним показником крові морських свинок, який був нами досліджений, є кількість кров'яних пластинок. При дослідженні крові встановлено деякі зміни цього показника (Табл. 5).

На сьому добу у III групі тварин встановлено достовірне зниження – $251,4 \pm 22,60$, що нижче за нижню межу норми на 3,3 %, проте на 14 добу встановлено тенденцію до збільшення цього показника. Також на 14 добу у II групі тварин встановлено достовірне збільшення показника порівняно з 7 добою (на 38,2 %) та контролем (на 61,8 %). На 27 добу показник II групи був наближений до нижньої межі норми – $262 \pm 34,3$, що на 50,6 % менше за показник на 21 добу. Однак на 41 добу показник кров'яних пластинок в даній групі нормалізувався – $344,0 \pm 90,09$.

Кількість кров'яних пластинок в крові морських свинок після антирабічної вакцинації, 1×10^9 в 1 дм^3 ($M \pm m$, $n=4$)

Групи тварин	Доба відбору крові					
	1	7	14	21	27	41
I група (холодовий стрес)	462,0± 13,02	456,2± 22,25	397,8± 26,14	314,5± 50,83	425,0±1 47,43	363,5± 45,23
II група (тепловий стрес)	468,8± 15,01	411,2± 61,33	568,0±6 0,06°/*	530,5± 117,59	262,0± 34,27°	344,0± 90,09
III група (аліментарний стрес)	392,2± 56,28	251,4± 22,60 °	322,4± 30,37	392,0±3 2,08	422,0± 12,28	331,6± 37,14
IV група (контроль)	389,8± 72,27	343,0± 20,62	351,8± 30,57	331,8± 55,90	328,2±6 0,60	352,0± 47,76

Примітки: ° – різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при $p \leq 0,05$;
* – різниця достовірна відносно контролю (IV група) при $p \leq 0,05$.

Зміни загальної кількості лейкоцитів та кров'яних пластинок у крові морських свинок після антирабічної вакцинації за впливу різних видів стресу потребують додаткового вивчення, що й буде метою нашої подальшої наукової роботи.

Висновки:

1. Антирабічна вакцинація на фоні аліментарного стресу призводить до часткового блокування червоного кров'яного мозку, внаслідок недостатнього надходження поживних та мінеральних речовин, яке не відновлюється навіть за двотижневої реабілітації.

2. Холодовий стрес у вакцинованих морських свинок призводить до зниження інтенсивності функціонування червоного кров'яного мозку, проте протягом двох тижнів робота останнього відновлюється.

3. Тепловий стрес у вакцинованих морських свинок спричинив аналогічні зміни показників гемцитопоезу як і холодове напруження. Відмінністю є лише інтенсивне надходження «молодих» еритроцитів у кров'яне русло на 14 добу експерименту. Після реабілітації всі показники не мали вірогідної різниці порівняно з показниками контрольної групи.

4. Значний вплив стресових факторів на морфологічні показники крові тварин за антирабічної вакцинації, вказує на необхідність паралельного дослідження вмісту специфічних антирабічних антитіл у сироватках крові та стану специфічної резистентності загалом.

Список використаної літератури

1. Недосеков В. В. Антирабічні вакцини в ветеринарній медицині / В. В. Недосеков, І. М. Полупан, Л. П. Гришок, М. Ю. Іванов // Бюлетень ІВМ УААН «Ветеринарна біотехнологія». – 2007. – № 11. – С. 141–150.

2. Недосеков В. В. Методические указания по определению иммунитета и эффективности вакцинации животных против бешенства / В. В. Недосеков, В. В. Куриннов, К. Н. Груздев. – Покров, 2002. – 12 с.

3. Никонов В. В. Стресс: современный патофизиологический подход к лечению / В. В. Никонов. – Харьков: Консум, 2002. – 240 с.

4. Пьянов В. Д. Моделирование стрессовых ситуаций и влияние их на физиологический статус собак / В. Д. Пьянов, М. С. Галицкая, Е. С. Шутенков // Учёные записки Казанской гос. акад. вет. медицины: Материалы международной научно-практической конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения Павловского Е.Н. – Казань, 2004. – Т. 179. – С. 265-271

5. Quesenberry K. Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery / Katherine E. Quesenberry, James W. Carpenter. – [3^{ed} ed.]. – St. Louis: Elsevier; 2011. – 596 p.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ МОРСКИХ СВИНОК ПРИ АНТИРАБИЧЕСКОЙ ВАКЦИНАЦИИ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА / А. П. Никитова, В. В. Недосеков, С. А. Нычик, И. Н. Полупан, Н. Ю. Иванов

В статье представлены результаты исследования морфологических показателей крови морских свинок, которых иммунизировали антирабической вакциной «Рабистар» и подвергали стрессовым факторам (холодовой, тепловой и алиментарный стресс). Результаты исследований крови морских свинок при действии разных стресс-факторов свидетельствуют о развитии состояния иммунной недостаточности, которая проявляется угнетением клеточного звена иммунного ответа.

Ключевые слова: стресс, антирабическая вакцина, морфологические показатели крови, морские свинки.

MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF BLOOD OF RABIES VACCINATED GUINEA PIGS UNDER THE EXPOSITION OF STRESS / A. Nikitova, V. Nedosekov, S. A. Nychyk, I. Polupan, M. Ivanov

The results of study of the morphological parameters of blood of guinea pigs that were immunized with rabies vaccine "Rabistar" and exposed to stress factors (cold, heat and nutritional stress) were presented in this article. The results of analysis of blood of guinea pigs under the exposition of various stress factors indicated the immune deficiency development, which is manifested in inhibition of cellular component of the immune response.

Key words: stress, rabies vaccine, the morphological parameters of blood, guinea pigs.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук А. В. Розумнюк