

bovine rhinotracheitis virus (up to 8.5 log₂) and coronavirus (up to 9.6 log₂) was observed on day 35 after revaccination. The obtained results demonstrated vaccine high antigenic activity and possibilities for its use as a preparation for immunoprophylaxis.

УДК 619:578:616.98:578.828.11:636.2

ДО ВИВЧЕННЯ ГУМОРАЛЬНО-КЛІТИННИХ ЗМІН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЛЕЙКОЗІ

Корнейков О.М., Горбатенко С.К., М'ятких Н.В., Зданевич П.П.,
Кузнецова О.В.

ННЦ «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Після інокуляції молодняка ВРХ від гематологічно хворої на лімфолейкоз корови встановлено, що на перших етапах розвитку інфекційного процесу фіксується лейкоцитоз з явищем лімфоцитозу (при зниженні кількості великих та середніх лімфоцитів на фоні зростання малих лімфоцитів), поява значної кількості фагоцитуючих еозинофілів, атипових форм лімфоцитів, на 12 добу фіксується найвищий рівень фагоцитарної активності, а вже через 12-14 днів відмічено зростання чисельності великих та збільшення співвідношення середніх лімфоцитів, яке після 24 доби після незначного зниження має постійний характер, а це свідчить про формування супресивного стану імунної системи в ранніх стадіях розвитку інфекційного процесу.

Організму здорової високорезистентної тварини властива здатність, при наявності прямого контакту зі збудником інфекційного характеру, або запалення травматичної етіології, включати компенсаторні механізми захисту гуморального чи клітинного плану. В одних випадках це проявляється у синтезі антитіл протибактеріальної або антивірусної орієнтації, в інших — перегрупування клітинного складу лейкоцитарної фракції крові у напрямку домінуючої концентрації елементів макрофагальної категорії. Впровадження засобів специфічної профілактики при загрозі ураження тварин збудником інфекційного захворювання обумовлює у здорової тварини формування захисного гуморального бар'єру [1, 2, 3].

При ряді інфекційних захворювань, особливо у випадках ураження органів кровотворної та імунокомпетентної системи, розвивається імунодефіцитний стан, коли значно знижується рівень як гуморального, так і клітинного захисту. Провідне місце при цьому належить імуносупресивному впливу на організм інфікованої тварини вірусу лейкозу великої рогатої худоби (ВЛ ВРХ) [4].

Основною метою цієї роботи було вивчення, на клітинному рівні, механізму розвитку імуносупресивного стану в організмі молодняка великої рогатої худоби при експериментальному лейкозі.

Матеріал і методика. У гострому досліді вивчали динаміку інфекційного процесу при експериментальному зараженні тварин ВЛ ВРХ. Використано 6 вільних від лейкозу, за результатами серологічних та мо-

лекулярно-генетичних (ПЛР) досліджень, бичків 6-7 місячного віку. Експериментальним тваринам підшкірно в області середньої третини шиї інюкульовано стабілізовану 3,8 % розчином цитрату натрію кров гематологічно хворої на лімфолейкоз корови. Гематологічні показники донора за співвідношенням клітин лейкоцитарної групи були наступними: чисельність лейкоцитів в межах 23×10^6 клітин в 1 см^3 периферичної крові, співвідношення лімфоцитів у лейкоцитарній фракції – 86 %. Уперерахунку на інфекційність кожній тварині інюкульовано по 12×10^6 лімфоцитів. У подальшому проби крові інфікованих тварин піддавали серологічним (РІД з лейкозним антигеном) та гематологічним дослідженням протягом першого місяця з інтервалом 4-6 діб, а потім, до завершення чотирьохмісячного терміну спостережень, через 12-15 діб.

При проведенні гематологічних досліджень визначали чисельність Т- та В-лімфоцитів у реакціях спонтанного непрямого глобулінового та комплементарного розеткоутворення, активність фагоцитозу, вміст великих гранулоvwміщуючих лімфоцитів, динаміку клітинних змін у реакції бласттрансформації, чисельність та співвідношення клітинних елементів периферійної крові та їх функціональні властивості. Дослідження проведені з використанням загальноприйнятих методик.

Вищезазначені дослідження проводили у ті самі терміни у контрольній групі інтактних тварин-аналогів.

Результати досліджень. При аналізі кількісних показників елементів лейкоцитарної фракції периферичної крові експериментально інфікованих тварин (рисунок 1), встановлено, що вже на шосту добу спостережень чисельність лейкоцитів збільшилась спочатку до 7,24 тис/мкл, а після 12 доби становила 9,56 тис/мкл, досягнувши свого максимуму на 30 доби та практично не змінюючись протягом 4-х місяців спостережень.

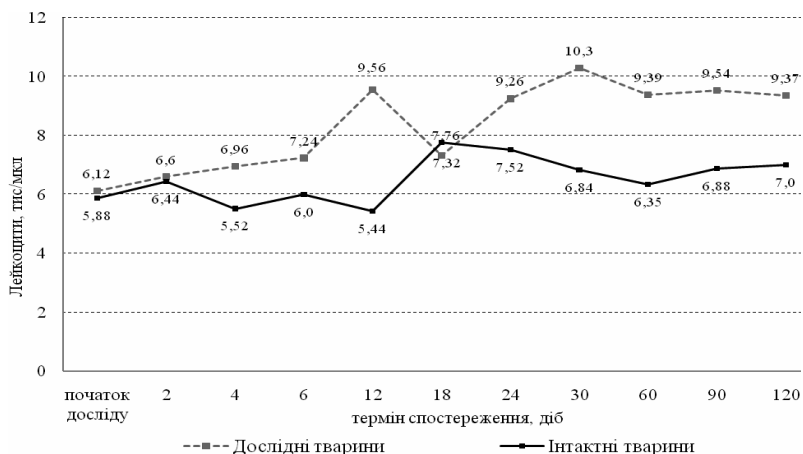


Рис. 1. Динаміка кількісних змін клітин лейкоцитарної фракції при експериментальному лейкозі.

Як свідчать дані, зображені нарисунку 2, значних кількісних змін набули і показники чисельності лімфоцитів у пробах крові інфікованих тварин. Так у момент інюкуляції інфікуючого матеріалу рівень лімфоцитів тварин дослідної групи становив 4,56 тис/мкл, та, збільшуючись поступово у перші 4-6 діб спостережень, через 12 діб і пізніше вже стабільно перевищував стартові рівні майже в 2 рази, досягаючи максимуму на 60-90 добу спостережень (9,35-9,36 тис/мкл відповідно).

У контрольній групі тварин-аналогів спостерігали стабільні коливання чисельності як загалом лейкоцитів, так і лімфоцитарного компоненту протягом спостережень упродовж 4-місячного терміну в межах значно нижчих, ніж у дослідних тварин.

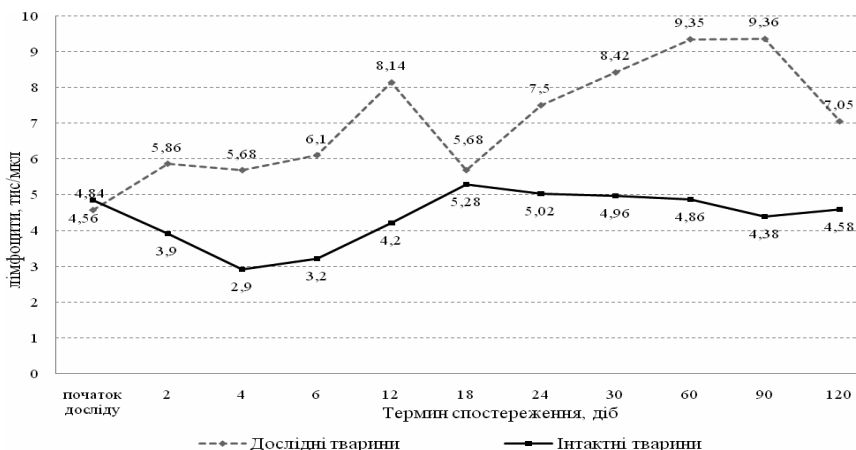


Рис. 2. Динаміка чисельності лімфоцитів при експериментальному інфікуванні тварин в окремі терміни спостереження.

Варто відзначити, що на першому етапі розвитку інфекційного процесу відмічено зростання чисельності еозинофілів (2,4 % до інфікування та 8,2 % на 4 добу спостереження), причому на 3-4 добу після інфікування в периферійній крові спостерігається поява фагоцитуючих еозинофілів. Поглинаюча активність клітин відносно *Staphylococcus aureus* становила до 18-20 мікробних тіл. На 6 добу і пізніше активність цих клітин щодо фагоцитозу зменшилась до нульового показника, а їх чисельність встановилась на рівні первинних показників. У тварин контрольної групи кількість еозинофілів за весь період спостереження не змінювалась. Спостерігали значні коливання у співвідношенні клітин нейтрофільної групи: на першому етапі відмічено зниження їх кількості у крові тварин дослідної групи (до 5,8 %) з послідовним поверненням цього показника до початкового рівня (16-18 %), тоді як у тварин контрольної групи цей показник залишається незмінним та відповідає початковому рівню (15-23 %). Це явище прямо корегувало з фагоцитозом (табл. 1) та активністю трансформації клітин (табл. 2).

Максимальний рівень активності фагоцитозу зафіксовано на 18-ту добу спостережень, при цьому був найвищий показник поглинання мікробних тіл та ферментативної активності полінуклеарів.

Таблиця 1 – Фагоцитоз нейтрофілів периферичної крові дослідних бичків в окремі періоди розвитку інфекційного процесу

| Строки дослідження | ФА, % | ФЧ, м/кл | | ФІ |
|--------------------|------------|------------|-----------|------------|
| | | 60 хв. | 120 хв. | |
| Дослідна група | | | | |
| До інфікування | 47,2±3,41 | 4,21±0,31 | 4,18±0,17 | 1,007±0,09 |
| Через 2 доби | 61,38±7,46 | 4,64±0,23 | 3,5±0,45 | 1,3±0,15 |
| 4 доби | 57,12±4,47 | 6,3±0,58 | 5,32±0,47 | 1,21±0,09 |
| 6 діб | 68,4±4,81 | 7,84±3,16 | 7,11±2,86 | 1,10±0,01 |
| 12 діб | 71,6±5,33 | 10,24±0,72 | 8,26±0,56 | 1,23±0,04 |
| 18 діб | 76,9±1,99 | 12,25±0,76 | 11,5±0,79 | 1,08±0,03 |
| 24 доби | 59,8±4,28 | 9,6±0,56 | 8,84±0,64 | 1,07±0,02 |
| 2 місяці | 53,2±7,8 | 5,41±0,61 | 5,32±0,28 | 1,02±0,05 |
| 3 місяці | 49,8±4,18 | 4,72±0,34 | 4,38±0,52 | 1,08±0,06 |
| Контрольна група | | | | |
| Початок досліду | 46,4±3,28 | 3,96±0,38 | 3,66±0,67 | 1,08±0,04 |
| Через 2 доби | 45,08±4,13 | 4,08±0,21 | 3,52±0,27 | 1,16±0,05 |
| 4 доби | 46,48±4,59 | 3,86±0,4 | 2,92±0,3 | 1,32±0,08 |
| 6 діб | 44,32±3,17 | 4,1±0,17 | 4,21±0,31 | 0,97±0,02 |
| 12 діб | 45,42±3,61 | 4,32±0,53 | 3,54±0,43 | 1,22±0,02 |
| 18 діб | 74,0±2,08 | 7,26±0,78 | 6,68±0,73 | 1,09±0,02 |
| 24 доби | 49,8±3,84 | 3,88±0,28 | 3,46±0,34 | 1,12±0,01 |
| 2 місяці | 45,84±2,86 | 4,1±0,84 | 3,98±0,76 | 1,03±0,01 |
| 3 місяці | 46,84±3,21 | 4,17±0,38 | 3,21±0,71 | 1,3±0,02 |

Для першого етапу розвитку інфекційного періоду властиве явище якісного та кількісного перерозподілу клітин лейкоцитарної фракції. Встановлено, що в перші 2-4 доби після інюкаляції вірусного матеріалу в пробах периферійної крові мало місце пригнічення кількісних показників клітин, відповідальних за рівень гуморального імунного відгуку – вміст великих лімфоцитів знизився до 9,9-8,5 %. У подальшому чисельність великих В-лімфоцитів збільшилась з 6 доби спостережень до 21,7 %, у подальшому – до 29,2 %, перевищуючи постійно, упродовж терміну спостережень, відповідний показник до інюкаляції вірусу в організм дослідних тварин.

Чисельність середніх лімфоцитів також різко знизилась у перші 2-4 доби спостережень (до 9,3-9,4 % проти 38 % на початок досліду). На 6 добу спостережень відмічено зростання кількості вищеозначених

клітин до рівня 48 %. В подальшому показник середніх лімфоцитів, повторюючи кількісні показники великих, стабілізувався до рівня 27-32 %, не перевищуючи стартові показники цих елементів лейкоцитарної фракції на момент початку досліджу.

Показники стосовно малих (Т-лімфоцитів) клітин лейкоцитарної фракції характеризувались короткочасним (2-4 доби) зростанням чисельності (69,8 % на 2-гу добу спостереження проти 45,1 % на період початку досліджу), зберігаючи у подальшому, до 6-12 доби, рівень, що в межах статистичної вірогідності незначно відрізнявся від вихідних кількісних показників стосовно цієї категорії клітин на початку досліджу. Також слід зазначити появу у перші 6 діб після інфікування атипичних форм лімфоцитів, які зникали на 12-дільному терміні спостережень, натомість на 75-ту добу з'являлись бластні форми лімфоцитів.

У групі інтактних тварин показники периферичної крові не зазнавали значних коливань в ті ж терміни спостережень, наявність атипичних та бластних форм лімфоцитів не спостерігалась.

Варто зауважити на матеріали спостережень стосовно формування бластних форм В- і Т-лімфоцитів під впливом мітогену (лейкоцитарний антиген) та фітогемаглютиніну *in vitro* (таблиця 2).

Як свідчать наведені у таблиці матеріали, відмічено активну трансформацію лімфоцитів під впливом мітогену. Після інокуляції вірусного матеріалу у дослідних тварин зростає функціональна активність В-лімфоцитів. Після появи специфічних антитіл та на більш пізніших етапах розвитку інфекційного процесу (2 місяці і більше) спостерігали перерозподіл клітин у бік Т-лімфоцитів, стимульованих фітогемаглютиніном. Саме цей період, на нашу думку, співпадає з розвитком супресивного стану імунної системи інфікованих тварин.

Що стосується гуморальних змін у організмі інфікованих вірусом лейкозу тварин, слід зазначити (таблиця 3), що протягом 6 тижнів спостережень антитіл то ВЛ ВРХ в пробах периферичної крові не фіксували. На 8-му тижні спостережень антитіла виявлені у 4-х з 6 дослідних тварин на рівні від нативної сироватки до титру 1:2. На 10-му тижні спостережень розвиток інфекційного процесу за гуморальними показниками фіксували серед усіх дослідних тварин. Причому, в залежності від індивідуальних особливостей рівень антитіл коливався в окремих тварин від нативної сироватки до розведення 1:8.

Висновки. 1. При експериментальному лейкозі інокуляція 12×10^6 лімфоцитів гематологічно хворої на лімфолейкоз корови викликає в інтактних бичків 6-7-ми місячного віку сероконверсію через 8-10 тижнів. Позитивна реакція імунодифузії реєструється при дослідженні нативної сироватки крові та при її розведенні 1:2.

2. Встановлено, що на перших етапах розвитку інфекційного процесу фіксується лейкоцитоз з явищем лімфоцитозу, поява значної кількості фагоцитуючих еозинофілів, вже через 12-14 діб відмічено зменшення чисельності великих та збільшення співвідношення середніх лімфоцитів, це свідчить про початок розвитку супресивного стану імунної системи вже на ранніх стадіях інфекційного процесу.

Таблиця 2 – Показники РБТЛ в досліді штучного інфікування тварин вірусом лейкозу

| Показник | До інфікування | Через, днів | | | | | |
|-----------------------|----------------|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | 2 | 4 | 12 | 18 | 60 | 90 |
| Контрольна група | | | | | | | |
| В-лімфоц. | 24,7±2,3 | 26,5±2,2 | 22,2±2,2 | 20,8±4,7 | 19,5±3,2 | 20,6±3,1 | 21,7±2,2 |
| Т-лімфоц. | 60,4±3,6 | 55,8±7,4 | 58,9±6,8 | 52,8±5,2 | 59,4±3,2 | 60,4±3,4 | 58,6±4,6 |
| Спонтанна аглютинація | 2,6±0,6 | 2,2±0,6 | 2,2±0,6 | 2,6±0,6 | 2,6±0,6 | 2,6±0,4 | 2,7±0,6 |
| Дослідна група | | | | | | | |
| В-лімфоц. | 2,3±6,2 | 23,5±3,5 | 31,5±3,2 | 25,8±1,3 | 21,7±2,2 | 36,8±2,7 | 46,4±2,4 |
| Т-лімфоц. | 56,4±7,6 | 68,2±6,4 | 67,2±7,4 | 66,2±4,1 | 54,2±3,1 | 41,6±3,8 | 31,8±4,2 |
| Спонтанна аглютинація | 2,5±0,61 | 3,0±0,8 | 2,2±0,76 | 2,8±0,7 | 2,6±0,6 | 2,6±0,3 | 2,6±0,4 |

Таблиця 4 – Результати серологічних досліджень при експериментальному лейкозі

| Інв. № | До зараження | Результати досліджень після зараження, тижнів | | | | | | |
|--------|--------------|---|---|---|-----|-----|-----|-----|
| | | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 15 |
| 9198 | — | — | — | — | ± | 1:2 | N+ | 1:2 |
| 9175 | — | — | — | — | — | N+ | 1:2 | 1:2 |
| 9167 | — | — | — | — | N+ | 1:2 | 1:2 | 1:2 |
| 9207 | — | — | — | — | 1:2 | N+ | N+ | 1:2 |
| 9161 | — | — | — | — | + | N+ | 1:2 | 1:2 |
| 9106 | — | — | — | — | — | — | 1:2 | 1:2 |

Список літератури

1. Лимфоциты. Методы (под ред. Дж. Клауса) пер. с англ. — М., — 1990. — 395 с. 2. Фримель, Х., Брок, Й. Основы иммунологии // Перевод с нем. Под редакцией С.Н. Маца. — М.: Мир, 1986. — 254 с. 3. Чеботкевич В.Н., Лютанский С.И. Методы оценки состояния иммунной системы и факторов неспецифической резистентности в ветеринарии // Пособие (под ред. В.Н. Чеботкевич, С.И. Лютинского). — Санкт-Петербург, 1998. — 27 с. 4. Ярчук, Б.М., Домбровский, О.Б., Тирсин, Р.В., Корнієнко, Л.Е., Довгань, О.В. Лейкоз великої рогатої худоби — К.: Друкарня видавництва "Київська правда", 2000. — 62 с. — (Бібліотека ветеринарної медицини).

TO THE STUDY OF HUMORAL-AND-CELLULAR CHANGES AT THE EXPERIMENTAL LEUCOSIS

Korneykov O.M., Gorbatenko S.K., Myagkyh N.V., Zdanevych P.P., Kuznetsova O.V.

National Scientific Centre "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

After inoculation of cattle sapling from hematologically patient on cow lympholeucosis are carried out that on the first stages of infectious process development is fixes leucocytosis with lymphocytosis (at lowering of quantity of big and middle lymphocytes on a background of small one increase), appearance of considerable quantity of phagocytosed eozinofiles, atypical forms of lymphocytes, on 12 day fixes the highest level of fagocytosed activity and after 12-14 days signed the increase of quantity of big and the correlation of middle lymphocytes that on 24 day after the decrease has permanent character. It testifies about forming of suppressive state of immune system in early stages of infectious process development.

УДК 636.598.15:619:616:615.

ВИВЧЕННЯ ДЕЗІНТОКСИКУЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АЛЬФАСОРБУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГОСТРОМУ Т-2 ТОКСИКОЗІ У ЩУРІВ

Коцюмбас І.Я., Брезвин О.М., Кушнір Р.О.

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів

У статті представлені результати вивчення дезінтоксикуючих властивостей альфасорбу при гострому Т-2 токсикозі білих щурів. В результаті проведених досліджень було встановлено, що введення щурам Т-2 токсину в дозі 0,4 мг/кг проявилось у вигляді дермонекротичних уражень навколо ротової порожнини, вираженням зниженням маси тіла тварин та макроскопічними змінами в печінці, в той час, коли вагові коефіцієнти досліджуваних органів були на рівні контрольної групи. Слід відмітити, що в дослідних щурів, які отримували альфасорб, клінічна картина Т-2 токсикозу була менш виражена, середня маса тіла зростала, в порівнянні з тваринами І групи, які не отримували альфасорб.

В останні десятиріччя як в Україні, так і в інших країнах світу різко загострилася проблема мікотоксикозів тварин та птиці, що представляє собою досить високу екологічну та економічну небезпеку.