

Таким образом, установлено, что биологически активные вещества экстракта из куриных эмбрионов увеличивают продолжительность времени до наступления судорог и потери сознания при моделировании гипоксии, а также способствуют восстановлению количества лейкоцитов в крови мышей, но не влияют на показатель количества эритроцитов у животных. Кроме того, введение экстракта предупреждает инволюцию тимуса и селезенки. Изучение свойств эмбриональных тканей и разработка на их основе новых лекарственных препаратов является перспективным направлением исследований в ветеринарии. Применение экстракта из эмбрионов кур может облегчить лечение и профилактику гипоксических состояний у животных.

Выводы.

1. Введение экстракта из эмбрионов кур увеличивает продолжительность времени пребывания животных в условиях гипоксии.
2. Воздействие гипоксии приводит к снижению количества лейкоцитов и увеличению числа эритроцитов. Введение экстракта увеличивает количество лейкоцитов у животных, подверженных гипоксии с гиперкапнией, но не влияет на количество эритроцитов.
3. Гипоксическая травма способствует уменьшению массы тимуса и селезенки, экстракт из куриных эмбрионов предупреждает инволюцию данных органов.

Список литературы

1. Зеленская, К.Л., Чуринов, А.А., Карпицкий, В.И. Антигипоксическое и антистрессорное действие водного углекислого экстракта пихты сибирской / К.Л. Зеленская. – Томск – 2004.
2. Кузнецова, В.Г. Влияние криоэкстрактов из эмбрионов кур на мышей и крыс с экспериментальной лейкопенией. / В.Г. Кузнецова // Загальна патологія і патологічна фізіологія. Луганськ – 2009. – Т.4, №4, – С. 64-72.
3. Лукьянова, Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы их коррекции / Л.Д. Лукьянова // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. Томск – 1997. – Т.124, №9, – С. 244-256.
4. Лукьянова, Л.Д. Современные подходы к поиску антигипоксантов / Л.Д. Лукьянова // Актуальные проблемы фармакологии и поиска новых лекарственных препаратов. Томск – 1999 – Т.10, – С. 59-67.
5. Мершинцев, Ю.А. Действие экстрактов из эмбрионов кур на процесс восстановления и поддержания количества лейкоцитов у крыс с экспериментальными ожогами / Ю.А. Мершинцев // Проблемы зооинженерии та ветеринарної медицини // Зб. Наук. пр. Харківськ. зоовет. ін.-ту. – Вип.23, Ч.2. – Харків, 2011. – С. 113-116.
6. Метелкин, А.И., Утевский, М.Л. Лабораторные клинические исследования. / А. И. Метелкин. – М.: Медгиз, 1951. – С. 158.
7. Лукьянова, Л. Д. Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств / Л.Д. Лукьянова. – М. 1990. – С. 8-9.
8. Мосягина, Е. Н. Эритроцитарное равновесие в норме и патологии. / Е.Н. Мосягина. – М.: Мир, 1962. – С.81-93.
9. Ашмарин, И.П., Каразеева, Е.П., Карабасова, М.А. и др. Патологическая физиология и биохимия: Учебное пособие для ВУЗов / И. П. Ашмарин. - М.: Изд-во «Экзамен», 2005. – С. 140-151.
10. Фисенко, В.П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / В. П. Фисенко. – М.: Медицина, 2000. – С. 153-158.
11. Сахаров, П.П., Метелкин, А.И. Гудкова, Е.И. Лабораторные животные. – М.: Медгиз, 1952. – С. 283.
12. Чарный, А.М. Патофизиология гипоксических состояний / А. М. Чарный. – М.: Медгиз, 1961 – 343 с.

EFFECT OF EXTRACT FROM CHICKEN EMBRYOS ON THE MASS OF LYMPHOID ORGANS AND NUMBER OF LEUCOCYTES IN MICE BLOOD AT EXPERIMENTAL HYPOXIA WITH HYPERCAPNIA

Timohina Yu.A., Mershinets Yu.A. Zhegunov G.F.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv

Results of the study of the influence of chicken embryo extract on the mass of lymphoid organs and number of leucocytes in mice blood at experimental hypoxia with hypercapnia are presented in the paper.

УДК 619:616-085.371:616.98:578.825.15:541

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА ПОСТВАКЦИНАЛЬНУЮ РЕАКЦИЮ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ИММУНИЗИРОВАННОГО ПРОТИВ ИРТ

Шуляк А.Ф., Величко Г.Н.

ГНУ Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П.Коваленко, г. Москва

Быкова С.Ю.

МГУ им. А.А. Кулешова, Беларусь, г. Могилев

Основным способом профилактики и контроля вирусных респираторных инфекций в большинстве стран является вакцинация. С этой целью разработано большое количество вакцин, живых и инактивированных, различающихся по реактогенности, иммуногенности, напряженности поствакцинального иммунитета.

В лаборатории вирусологии ВИЭВ разработаны и внедрены в производство и ветеринарную практику вирусвакцины против ИРТ (1978); ИРТ и ПГ-3 (1984); ВД-БС (1988); ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 (2009). Несмотря на высокую эффективность этих препаратов, неоднократно предпринимались попытки усиления иммуногенности за счет сочетанного применения их с различными веществами, воздействующими на иммунную систему [2, 3]. Существенного повышения эффективности вакцин при этом не наблюдалось.

В задачу данной работы входило исследование влияния наночастиц сплава железа, меди и цинка на поствакцинальную реакцию крупного рогатого скота (КРС) при иммунизации вакциной «Тривак» против ИРТ, ВД-БС и ПГ-3.

Материалы и методы. Эксперименты проводили в СДП «Авангард» Могилевского района республики Беларусь на 120 коровах. Животные были разделены на 12 групп по 10 голов в каждой.

Для иммунизации коров вирусвакцину «Тривак» вводили подкожно в соответствии с инструкцией по применению. Кроме того, вакцину вводили в дозе 0,1 и 0,01 от стандартной дозы препарата.

В качестве ультрадисперсной системы (УДС) наночастиц металлов использовали препарат «Миопрол», представляющий собой суспензию в монопропиленгликоле сплава железа (40%), меди (40%) и цинка (20%) со средним размером частиц 80 нм в концентрации 250 мг/мл. УДС вводили животным внутримышечно в дозах 0,125; 0,375 и 0,75 мг/кг живой массы.

Схема эксперимента. Животным группы 1 вводили 0,1 дозы вакцины, группы 2 – 0,01 дозы вакцины, группы 3 – стандартную дозу. Животным остальных групп (4-12) вакцину вводили в вышеуказанных дозах в сочетании с различными дозами УДС.

Иммунную реакцию животных определяли по уровню антител против вируса ИРТ в РН. Реакцию ставили микрометодом на 96-луночных культуральных планшетах в культурах клеток MDBK и ТЭБ против 100 ТЦД₅₀ вируса ИРТ. Кроме того, анализировали заболеваемость КРС в хозяйстве в течение года.

Уровень сывороточного ИФН определяли через 24 ч после вакцинации и ревакцинации биотестированием на 96-луночных планшетах в культуре клеток MDBK, используя в качестве индикатора ИФН 100 ТЦД₅₀ вируса EMC.

Статистическая обработка. Обработку количественных результатов проводили с помощью программы BIOSTAT.

Результаты исследований. Серологическое обследование на ферме, неблагополучной по респираторным болезням телят и абортам коров, продемонстрировало 100 %-ю серопозитивность коров при титре антител к вирусу ИРТ 1: 20,4±13,23. После пастбищного сезона уровень серопозитивности и титр сывороточных антител существенно снизились: до 59,5 % и 1:6±1,8 соответственно. Эксперименты проводили на 120 коровах этой фермы.

Вакцина и УДС во всех испытанных дозах не вызвали у коров ни общей, ни местной клинической реакции. Через 7 дней после вакцинации 9,6 % коров остались серонегативными, у остальных животных наблюдалась положительная сероконверсия. Через 15 дней после вакцинации уровень антител существенно повысился, однако он зависел как от дозы вакцины, так и от дозы УДС. Эта тенденция сохранялась и через 2 недели после ревакцинации. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Уровень специфических антител у вакцинированного против ИРТ КРС

Группа	Кол-во животных	Доза вакцины	Доза УДС (см ³)	Титр антител		
				до вакцинации	после вакцинации	P
1	10	стандарт	0	1,6±0,3	17,6±11,19	
2	10	стандарт	1,5	1,6±0,3	4,4±1,27	0,005
3	10	стандарт	0,75	2,2±0,4	5,2±1,9	0,008
4	10	стандарт	0,25	1,6±0,3	3,6±1,27	0,003
5	10	0,1	0	2,2±0,4	24,0±8,43	
6	10	0,1	1,5	2,2±0,4	4,4±1,27	0
7	10	0,1	0,75	1,6±0,3	6,0±3,4	0
8	10	0,1	0,25	2,2±0,4	8,5±6,59	0
9	10	0,01	0	1,6±0,3	20,8±7,73	
10	10	0,01	1,5	2,2±0,4	3,2±4,91	0
11	10	0,01	0,75	2,2±0,4	4,8±3,16	0
12	10	0,01	0,25	2,2±0,4	2,4±2,07	0

Как следует из данных, представленных в таблице 1, все испытанные дозы вакцины вызывали поствакцинальную гуморальную реакцию. УДС металлов достоверно снижала уровень этой реакции. При этом наблюдалась зависимость доза-эффект. Эти данные согласуются с результатами О.В. Баковецкой, А.А. Еремина, Р.М. Пилипенко [1], которые показали, что УДС железа, цинка и меди снижает количество В-лимфоцитов у КРС.

Альтернативным методом оценки эффективности применения вирусвакцины против ИРТ в сочетании с УДС являлось определение такого показателя врожденного неспецифического иммунитета как интерферогенез, который определяли по уровню ИФН в сыворотке крови через 24 часа после вакцинации и ревакцинации. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2 – Уровень сывороточного ИФН у вакцинированного против ИРТ КРС

Группа	Кол-во животных	Доза вакцины	Доза УДС (см ³)	Титр ИФН			
				после 1-й вакцинации	P	после ревакцинации	P
1	10	стандарт	0	96,0±0		64,0±33,73	
2	10	стандарт	1,5	12,0±4,22	0	19,2±6,75	0,004
3	10	стандарт	0,75	20,8±7,73	0	3,6±4,22	0,02
4	10	стандарт	0,25	96,0±0	1	22,0±10,54	0,015
5	10	0,1	0	32,0±0		64,0±33,73	
6	10	0,1	1,5	96,0±0	0	96,0±0	0,015
7	10	0,1	0,75	96,0±0	0	83,2±26,98	0,081
8	10	0,1	0,25	64,0±33,73	0,015	32,0±0	0,015
9	10	0,01	0	8,0±0		64,0±33,73	
10	10	0,01	1,5	16,0±0	0	40,0±8,43	0,015
11	10	0,01	0,75	96,0±0	0	9,0±3,16	0
12	10	0,01	0,25	64,0±33,73	0	24,0±0	0,005

Представленные в таблице 2 данные свидетельствуют о влиянии и вакцины, и УДС металлов на систему ИФН. При этом наблюдается прямая зависимость доза-эффект. При первой вакцинации более высокие дозы вакцины индуцировали более высокий уровень ИФН. При ревакцинации подобной зависимости не выявлено. УДС металлов также влияла на интерферогенез прямо пропорционально дозе. Следует отметить, что в ранее проведенных опытах нами не обнаружено ИФН-генного действия УДС в культуре клеток эндотелия человека и лейкоцитарных культурах мышей. Однако, лейкоциты мышей, получавших УДС, при индукции ВБН продуцировали ИФН на значительно более высоком уровне, чем лейкоциты интактных мышей [4]. Результаты таблицы 2 указывают также на антагонистическое влияние вирусвакцины и УДС металлов на синтез ИФН.

Наблюдения в течение года свидетельствуют о значительном снижении заболеваемости, гибели и вынужденного убоя среди вакцинированных коров и их потомства. Достоверных различий по этим показателям в подопытных группах не выявлено.

Выводы. Проведенные эксперименты показали, что УДС железа, меди и цинка отрицательно влияет на иммунизацию против ИРТ КРС живой вакциной. Установлено также, что УДС металлов стимулировал интерферогенез у этого вида животных. При одновременном применении УДС металлов с вирусвакциной уровень синтеза ИФН снижался.

Список літератури

1. Баковецкая, О.В., Еремін, А.А., Пилипенко, Р.М. Модифицирующее влияние наночастиц металлов на репродуктивную функцию коров в послестельный период. Веткорм – 2009 – № – с. 14-15. 2. Величко, Г.Н. Противовирусное и иммуномодулирующее действие бетулина при вирусных респираторных инфекциях крупного рогатого скота. Диссертация. – 2008. 3. Кучерук, О.Д., Жукова, Е.В., Устинова Г.И. Применение гликопина с вакциной для профилактики инфекционного ринотрахеита. Труды ВИЭВ – 2009 – т.75 – с. 135-137. 4. Федоров, А.И., Искандарова, С.С., Искандаров, М.И. и др. Иммунотропное действие миопрола на модели белых мышей и клеток эндотелия кровеносных сосудов. Труды ВИЭВ – Т.76 – с. 241-245.

INFLUENCE OF NANOPARTICLES OF METALS ON THE VACCINE-CHALLENGED REACTION OF CATTLE, IMMUNIZED AGAINST IBR

Shulyak A.F., Velichko G.N.

SRE All Russian Institute of Experimental Veterinary Medicine named after Ya.R. Kovalenko, Moscow

Вукова С. Ю.

Mogilev State University named after A/A/ Kuleshov, Byelarus, Mogilev

UDS of Fe, Cu and Zn influenced negatively on the antibody response and syntheses of interferon in cattle inoculated with live vaccine against IBR. There was observed correlation "dose-effect".

УДК 619:591.8:616-097.3:578.832.1

**ВИВЧЕННЯ МУКОЗАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ КУРЧАТ
ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАРАЖЕННЯ ВІРУСОМ ІНФЕКЦІЙНОГО ЛАРИНГОТРАХЕЇТУ**

Шутченко П.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Птахівництву в країнах з інтенсивним розвитком тваринництва надають особливо великого значення, вважаючи його одним з основних чинників у проблемі забезпечення населення м'ясопродуктами. Вирішення цієї важливої проблеми пов'язано зі стійким благополуччям господарств стосовно захворювань інфекційної етіології [4]. Вірусні хвороби, які проявляються масовим ураженням респираторних органів та органів травлення домінують у їх загальній патології. Особливе місце серед них займають хвороби інфекційної етіології, які спричиняють великі економічні збитки господарствам. Основними такими хворобами у курей є грип птиці, мікоплазмоз, ларинготрахеїт, інфекційний бронхіт курей, ньюкаслська хвороба, вивченню яких у останні роки приділяється зростаюча увага. Ці хвороби відносять до мукозальних захворювань. Тому, разом із загальним – клітинним та гуморальним імунітетом, доцільно вивчати локальний, або мукозальний імунітет слизових оболонок респираторного, шлунково-кишкового тракту, а також кон'юнктиво-асоційовану лімфоїдну тканину. Слизова оболонка із-за її топографічної позиції є першою для ураження патогенами та взаємодіє з екзогенними антигенами [1]. Вона містить комплекс факторів неспецифічного та специфічного імунного захисту, що в більшості випадків забезпечує надійний бар'єр від проникнення патогенів. Імунітет слизової оболонки являє собою складну систему, який включає структуровані та лімфоїдні тканини, епітеліальні клітини, дендритні клітини, макрофаги, нейтрофіли [3]. Вивченню мукозального імунітету разом із загальним приділяється окрема увага дослідниками усього світу. З цієї метою використовують найсучасніші методи гістохімії та імуногістохімії, що ґрунтуються на імуноферментному виявленні імунокомпетентних клітин та антигенів збудників за допомогою специфічних або антивидових сироваток у зрізах тканини [2]. Проте такі дослідження загального та мукозального імунітету в Україні не проводяться. Застосування імуногістохімічних методів дозволяє вивчити динаміку імунної відповіді у домашньої птиці та тварин на рівні субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів і макрофагів та М-клітин (мембранних клітин) шлунково-кишкового тракту.

Матеріали і методи. У досліді використовували 2 групи птиці: перша група курчат була заражена епізоотичним штамом вірусу інфекційного ларинготрахеїту інтратрахеально у дозі 100 ЕІД₅₀/гол. Друга група курчат слугувала інтактним контролем. Від курчат на 1-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у та 21-у добу відібрано зразки внутрішніх органів – сліпа кишка, трахея, легені. Матеріал фіксували у рідкому азоті. Проведено виготовлення гістологічних препаратів із застосуванням кріостату, фарбування зрізів імуногістохімічним методом із застосуванням міченого стрептавідин-біотину.

З метою імуногістохімічних досліджень вивчення формування імунної відповіді курчат були застосовані моноклональні антитіла до субпопуляцій імунокомпетентних клітин: CD4, CD8, IgM, IgG, IgA, макрофаги.

Імуногістохімічний облік клітинних субпопуляцій Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів, макрофагів у внутрішніх органах було здійснено за допомогою комп'ютерної програми «ВідеоТест Морфологія – 5.0». У цих органах було підраховано відсоткове співвідношення зон позитивно фарбованих клітин до всіх клітин зрізу (незabarвлених). Отримані дані обробляли статистично.

Результати досліджень. При детальному вивченні динаміки формування імунної відповіді у інфікованих та контрольних курчат були встановлені наступні зміни.

У легенях при дослідженні субпопуляцій Т-лімфоцитів з поверхневим маркером CD8 було встановлено різке збільшення їх активності майже у 2 рази у 1-й групі курчат. Так, на 3-ю добу вміст клітин-хелперів становив (4,170±0,205) % при (2,416±0,335) % у контролі. Але на 7-у добу спостерігали різке збільшення клітин у групі контролю до (4,026±0,123) % (Рис. 1). Таким чином, вірус стимулює активізацію процесу накопичення клітин-кілерів набагато раніше. Стимуляція імунної відповіді мала місце у курчат 1-ї групи до 14-ї доби досліджень, коли вміст кілерів набував максимальних показників і становив (5,920±0,703) % проти (3,676±0,182) % у контролі.

Схожа динаміка була і у клітин з поверхневим маркером CD4. Так, збільшення клітин по відношенню до контролю спостерігалось у курчат 1-ї групи з 3-ї доби (2,976±0,261) % при (2,963±0,977) % у групі контролю та тривало до 5-ї доби з показником (3,063±0,933) % при (3,036±0,449) % у групі інтактних курчат. Але з 7-ї доби процес збільшення активності клітин набував різкого характеру та становив (3,843±0,222) % при (3,410±0,266) % у курчат контрольної групи. Максимальних вірогідних показників CD4 досягало у курчат 1-ї групи на 10-у добу (5,476±0,250) % при (3,080±0,540) % – у групі інтактних курчат. На 14-у добу та до кінця строку спостережень відбувалося дуже повільне зменшення відсоткової кількості CD4, на відміну від контрольних курчат, де спад активності був значним на 21-у добу (2,214±0,813) % при (3,173±0,200) % – на 14-у добу досліджень.