

2. Препараты увеличивают содержание общего белка за счет глобулиновой фракции, в частности гамма-глобулинов, повышают лизоцимную и бактерицидную активность сыворотки крови, вызывают морфологические изменения состава крови.

3. Подкожное введение бюстимуляторов четырехкратно с интервалом в 7 дней сопровождается снижением заболеваемости телят и повышением их сохранности.

4. По механизму действия на организм телят оба стимулятора одинаковы с той лишь разницей, что показатели клеточных и гуморальных факторов неспецифической защиты более ярко проявляются после применения гумата натрия, который обладает более длительным эффектом последодействия.

5. Гумат натрия перспективен для повышения естественной реактивности и иммунологической реактивности организма телят в условиях интенсивной технологии выращивания, так как является более доступным и дешевым, а также простым в изготовлении.

П.А.Красочко, Е.В.Баева, Т.И.Помирко

#### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ *BAC. ALVEI-3* НА КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В последние годы вопросу влияния бактерий на клеточный иммунитет человека и животных придается большое значение. В литературе имеются сведения о микроорганизмах, обладающих иммуностимулирующими свойствами, повышающими активность фагоцитоза, функциональную активность Т- и В-лимфоцитов, их абсолютное количество. Детально изучено влияние на иммунную систему организма животных микроорганизмов *Mycobacterium bovis*, *Corinebacterium parvum*, *Bord.pertussis*, *Bac.subtilis*, бактериальных полисахаридов, полученных из *E.coli*, *Bact.prodigiosum* (продигиозан), *Salmonella paratyphi B* (сальмосан), *Sacharomyces cerevisi* (зимозан), *Pseudomonas aeruginosa* (пирогенал) и др. [1 - 3]. Но работ о влиянии спорообразующих аэробных бактерий (бацилл) на иммунную систему животных в отечественной литературе немного.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния спорообразующей аэробной бактерии *Bac.alvei-3* на клеточный иммунитет молодняка крупного рогатого скота.

Объектом исследования служили телята черно-пестрой породы (23 головы) из совхоза "Заря" Новоаненского р-на Молдавской ССР. Дивот-

Т а б л и ц а I. Результаты исследования клеточного

Дни опыта	Лейкоциты, тыс./мкл		Лимфоциты, тыс./мкл		Т-лимфоциты, тыс./мкл	
	опытная	контроль-ная	опытная	контроль-ная	опытная	контроль-ная
Исходные данные:	8,08±0,68	9,47±0,85	5,24±0,49	6,07±0,37	2,39±0,21	2,27±0,18
на 5-й день	9,53±0,51	9,3±1,48	6,41±0,48	6,02±0,79	2,55±0,11	2,32±0,27
на 11-й день	12,24±1,45	9,73±1,95	8,38±1,24	6,17±1,35	3,06±0,46	2,46±0,69
на 21-й день	9,75±0,86	9,15±0,91	6,74±1,21	6,37±0,83	2,38±0,53	2,25±0,02
на 30-й день	11,15±1,25	9,31±1,52	7,64±0,85	6,35±1,25	2,96±0,39	2,29±0,49

ным вводили подкожно 40 млрд инактивированных формальдегидом бактерий *Bac. alvei*-3 двукратно с интервалом 14 дней. Иммунологическое обследование проводили непосредственно перед введением бактериальной взвеси и в разные сроки после введения. Контролем служили интактные животные, содержащиеся в идентичных условиях.

Мононуклеары из периферической крови выделяли путем центрифугирования в одноступенчатом градиенте плотности фикокол-верографии (1,077 г/мл). Фракцию мононуклеарных лейкоцитов отмывали холодной средой I99. Клетки ресуспендировали в культуральной среде Игла с добавлением 1000 мг/л бикарбонатов натрия, пенициллина (100 ЕД/мл), стрептомицина (100 мкг/мл), глутамина (2 мкг/мл) и 5%-й эмбриональной телячьей сыворотки. Концентрацию мононуклеаров в среде доводили до  $1 \times 10^6$  клеток/мл, разливали по лункам микроплат в объеме 100 мкл/лунку. Клетки культивировали 72 ч в присутствии митогенов: фитогемагглютинаина (ФГА), конканавалина А (Кон А) в концентрациях 5 и 10 мкг/мл и липополисахарида (ЛПС) *Bact. prodigiosum* в концентрации 40 и 50 мкг/мл.

Прелиферативную активность оценивали по включению  $^3\text{H}$ -тимидина в ДНК клеток, добавляемого по 0,5 Ки/лунку за 4 ч до окончания культивирования. После окончания инкубации клеток их осаждали на мембранные фильтры "Sunroc" (диаметр пор - 0,6...2,5 мкм), промывали холодной 5%-й трихлоруксусной кислотой с добавлением тимидина в 100-кратном избытке по отношению к радиоактивному, фиксировали в этаноле и отмывали от остатков воды в смеси этанол-эфир. Радиоактивность кислото-нерастворимого материала определяли на жидкостном сцинтилляционном

иммунитета у телят

В-лимфоциты, тыс./мкл		Фагоцитарный индекс		Фагоцитарное число	
опытная	контроль-ная	опытная	контроль-ная	опытная	контроль-ная
1,84±0,24	2,05±0,14	1,80±0,17	2,00±0,12	68±2,5	64±3,4
1,94±0,06	1,72±0,27	3,83±0,11	1,65±0,65	91,2±2,58	62,4±2,5
2,61±0,34	1,57±0,27	3,23±0,07	1,78±0,04	88,8±1,72	67,2±1,72
2,06±0,41	1,60±0,36	3,2±0,06	1,97±0,05	80,8±1,72	80,0±1,72
2,24±0,29	1,65±0,31	2,21±0,05	1,95±0,04	80,8±3,4	68,0±2,3

счетчике Бета-1. Отношение числа импульсов в минуту в пробе с митогеном к таковому в контроле принимали за индекс стимуляции [4].

Количество Т- и В-лимфоцитов в крови телят после обработки взвесью Bacalve1-3 определяли по Д.К.Новикову и В.И.Новиковой [5]. Для определения уровня Т-лимфоцитов использовали тест прямого розеткообразования (В-РОК) с эритроцитами барана. Уровень В-лимфоцитов исследовали методом комплементзависимого розеткообразования ЕАС-РОК. Лейкоцитарную взвесь получали путем лизиса эритроцитов дистиллированной водой по А.Ф.Могиленко [6]. Подсчитывали уровень лейкоцитов, а также относительное и абсолютное количество лимфоцитов, Т- и В-клеток в пересчете на 1 мкл периферической крови. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по Н.С.Кисляк и Р.В.Ленской [7] с вычислением фагоцитарного числа Райта и фагоцитарного индекса Гамбургера.

Статистическую обработку полученных результатов производили по Р.Б.Стрелкову [8].

В табл. I приведены результаты влияния Bac. alve1-3 на клеточный иммунитет в системе in vivo. Установлено, что после введения в организм взвеси бактерий вначале активизируется поглотительная способность нейтрофилов, повышается процент фагоцитов, имеющих поглощенные микроорганизмы. На 5-6-й день повышается абсолютное количество лимфоцитов, но абсолютное содержание Т- и В-лимфоцитов увеличивается незначительно. Значительное увеличение лимфоцитов отмечается на II-й день опыта - количество В-лимфоцитов достигает 2,61±0,34 тыс./мкл, Т-лимфоцитов - 3,06±0,46 тыс./мкл. К 30-му дню опыта показатели клеточного иммунитета приближаются к исходным величинам.

Т а б л и ц а 2. Индекс стимуляции лимфоцитов после сенсibilизации организма телят *Bac. alvei-3*

Дни опыта	Митогены			
	ФГА 5 мкг/мл	Кон А 10 мкг/мл	ЛПС <i>Bact. prodigiosum</i>	
			40 мкг/мл	50 мкг/мл
Исходные данные:	14,0±4,9	4,3±0,09	14,7±0,75	11,8±4,3
на 4-й день	17,2±3,3	13,7±1,9	30,0±13,4	45,8±21,1
на 8-й день	13,3±1,7	21,2±5,8	11,8±2,5	16,3±2,5

Функциональная активность лимфоцитов повышается значительно раньше, чем увеличивается их количественный состав (табл.2).

На 4-й день после сенсibilизации лимфоцитов телят в системе *in vivo* *Bac. alvei-3* индекс стимуляции после воздействия фитогемагглютинином увеличивается в 1,2 раза, конканавалином А - в 3,2 раза, липополисахаридом *Bact. prodigiosum* в концентрации 40 мкг/мл - в 6,4 раза, в концентрации 50 мкг/мл - в 3,9 раза.

На 8-й день эти показатели значительно снизились, хотя индекс стимуляции после воздействия конканавалина А возрос в 4,9 раза.

Результаты опыта показали, что введенная телятами взвесь *Bac. alvei-3* преимущественно сенсibilизирует В-систему лимфоцитов, хотя заметно стимулирующее действие и на Т-систему лимфоцитов. Подтверждением этому явилось значительное стимулирующее действие лимфоцитов в системе *in vitro* под действием поликлонального активатора В-системы лимфоцитов - бактериального полисахарида *Bact. prodigiosum* (продигиозана).

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что первоначально стимулируется фагоцитарная система нейтрофилов и повышается функциональная активность Т- и В-лимфоцитов периферической крови. Стимуляция синтеза ДНК в лимфоцитах ведет к пролиферации клеток и, как следствие, к повышению абсолютного количества как Т-, так и В-лимфоцитов периферической крови. Введенная телятам взвесь *Bac. alvei-3* оказывает стимулирующее действие на клеточный иммунитет в первые 4 - II дней.

Стимуляция иммунной системы при помощи *Bac. alvei-3* позволяет организму животного быть более устойчивым как к инфекционным, так и незаразным заболеваниям, к постоянному стрессированию.

Таким образом, введение телятам *Bac. alvei-3* стимулирует в первую очередь фагоцитоз и повышает функциональную активность лимфоцитов периферической крови в первые 4-II дней. Повышение содержания Т- и В-лимфоцитов после введения телятам взвеси *Bac. alvei-3* отмечено к II-му дню, но в то же время функциональная активность лимфоцитов снижается. Обработка телят взвесью *Bac. alvei-3* стимулирует

преимущественно В-систему лимфоцитов и в меньшей мере Т-систему.

### Литература

1. Шляков Э.Н., Кику В.Ф. Стимуляция поствакцинального процесса. Кшиинев: Штинца, 1984. 200 с.
2. Лазарева Д.Н., Алехин Е.К. Стимуляторы иммунитета. М.: Медицина, 1985, 256 с.
3. Маянский А.Н. Поликлональные митогены лимфоцитов бактериальной природы//Иммунология. 1980. № 1. С.27 - 34.
4. Штут Х. Реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) в клинической диагностике//Иммунологические методы. М.: Мир, 1979. С.487 - 500.
5. Новиков Д.К., Новикова В.Н. Клеточные методы иммунодиагностики. Минск: Беларусь, 1979. 224 с.
6. Могиленко А.Ф. Способ определения Т- и В-лимфоцитов крупного рогатого скота//Ветеринарная наука - производству. Минск: Беларусь, 1983, С.79 - 81.
7. Кисляк Н.С., Ленская Р.В. Клетки крови у детей в норме и патологии. М.: Медицина, 1978. 252 с.
8. Стрелков Р.В. Метод вычисления стандартной ошибки и доверительных интервалов средних арифметических величин с помощью таблиц. Сухуми: Алашара, 1966. 16 с.

В.М.Ивченко

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕВАМИЗОЛА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ВАКЦИНЫ ИЗ СТАФИЛОКОККОВ

У крупного рогатого скота стафилококки чаще всего поражают вымя, половые органы и органы дыхания. В комплексе профилактических мероприятий со стафилококковыми инфекциями вымени важное место занимает иммунопрофилактика, успех которой во многом зависит от овойств антигенов, из которых изготовлена вакцина.

Стафилококки имеют две группы антигенов. Одни из них локализованы в микробной клетке, а другие представляют собой продукт метаболизма - экзотоксин. Основным компонентом клеточной стенки является комплекс тейхоевой кислоты с муреином. По литературным данным, тейхоевые кислоты подавляют иммунный ответ хозяина и способствуют