

энтерита / А.Н. Дубков, Парамошин В.И. // Ветеринарная газета. №13 /161/-Июль.-1999.-С.7. 7. Дурьманов, А.Г. Парвовирусный энтерит плотоядных // Тезисы докл. «1 Региональная конференция по болезням мелких домашних животных». -Новосибирск, 14 мая, 1996.-С. 16. 8. Bandai C, Ishiguro S, Masuya N, et al. Canine Coronavirus Infections in Japan: Virological and Epidemiological Aspects. J. Vet. Med. Sci July 1999. V 61 (7) 731 – 736.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 636:611.4:619:616.98:579.834.115:615.371

ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ СВИНЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА

Никитенко И.Г.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

При иммунизации свиней против лептоспироза вакцинами отечественного производства, содержащими в своем составе различные адъюванты, с применением иммуностимулирующих препаратов происходит достоверное повышение лизоцимной активности сыворотки крови и фагоцитарной активности нейтрофилов.

The immunization of pigs against leptospirosis with domestic vaccines containing various adjuvants combined with the application of immunostimulants leads to an increased lysocyme activity and phagocytic activity of neutrophils.

Введение. В системе иммунитета выделяют специфические и неспецифические факторы. Специфическими факторами являются антитела (продукты плазматических клеток, предшественниками которых являются В-лимфоциты) и Т-лимфоциты, имеющие специфические рецепторы к антигенам. Неспецифические факторы иммунитета включают клеточные и гуморальные.

Клеточные факторы – это фагоциты (моноциты, макрофаги, полиморфноядерные лейкоциты), которые проявляют свою активность во всех тканях, полостях, могут выходить на поверхность слизистых оболочек и там выполнять защитную функцию [6]. Фагоциты способны связывать микроорганизмы на своей поверхности, а затем поглощать и уничтожать их. Эта функция основана на простых, неспецифических механизмах распознавания, позволяющих связывать самые разнообразные микробные продукты. Фагоциты образуют первую линию защиты против инфекции [7].

Гуморальные факторы неспецифического иммунитета разнообразны: система комплемента, неспецифические глобулины, С-реактивный белок, фермент лизоцим, интерфероны, цитокины и др. [6]. Гуморальные факторы обуславливают бактериостатическое и бактерицидное свойство крови и ее сыворотки [1].

Неспецифические факторы иммунной защиты организма довольно сильны и немедленны по типу своего действия. Они первыми вступают в борьбу с чужеродными частицами, попавшими в организм, т.е. обнаруживают, распознают и уничтожают антигены. Вызывая их лизис, опсонизацию и переваривание чужеродных частиц, неспецифические факторы иммунной реактивности также выполняют регуляторные и эффекторные функции, взаимодействуя со специфическим звеном иммунитета [5].

Вакцины – препараты из возбудителей заболевания или их протективные антигены, предназначенные для создания активного специфического иммунитета с целью профилактики болезней животных. Следует отметить, что все вакцины – иммуномодуляторы, т.е. изменяют реактивность организма, повышая ее против данного микроорганизма, они могут снижать ее по отношению к другому [6]. Поэтому очень важно контролировать, чтобы при иммунизации животных факторы неспецифической иммунной реактивности оставались на высоком уровне, обеспечивая надежную защиту организма.

В настоящее время подавляющее большинство вакцин содержат адъюванты – вещество или комплекс веществ, используемые для усиления иммунного ответа при введении одновременно с иммуногеном. Некоторые из них (минеральные сорбенты и масляные эмульсии) способствуют лучшему поглощению антигенов макрофагами, другие усиливают пролиферацию иммунокомпетентных клеток или секрецию активизирующих факторов и т.д. [8].

Целью наших исследований явилось изучение показателей неспецифической иммунной реактивности свиней при иммунизации их против лептоспироза вакцинами, содержащими различные адъюванты, а также с применением иммуностимулятора (серноватистокислого натрия).

Из факторов гуморальной устойчивости наиболее доступным является определение в сыворотке крови фермента лизоцима, который обладает высокой литической активностью в отношении микроорганизмов, имеются также данные о стимулирующем влиянии лизоцима на реакцию фагоцитоза. Определение бактерицидной активности сыворотки крови позволяет судить о суммарной активности гуморальных факторов иммунитета [1]. Для оценки клеточных факторов неспецифической реактивности определяют показатели завершеного и незавершеного фагоцитоза, учитывая поглотительную и переваривающую активность нейтрофилов крови.

Материалы и методы исследований. Экспериментальные исследования были проведены на 60 свиньях в возрасте 6 месяцев, подобранных по принципу аналогов и разделенных на 5 групп по 12 голов в каждой. Животных 1-й группы иммунизировали отечественной инактивированной поливалентной вакциной ВГНКИ производства УП «Витебская биофабрика» против лептоспироза свиней, в качестве адъюванта применялся гидроокись алюминия (вакцина ГОА). Свиньям 2-й группы вводили экспериментальную вакцину против лептоспироза, изготовленную по заказу в УП «Витебская биофабрика», где в качестве адъюванта использовали 30%-й раствор серноватистокислого натрия (вакцина тиосульфатная). Животных 3-й группы иммунизировали экспериментальной вакциной против лептоспироза свиней, изготовленной по заказу в УП «Витебская биофабрика», где в качестве адъюванта применяли минеральное масло Маркол 52 (вакцина эмульгированная). Свиней 4-й группы вакцинировали также экспериментальной вакциной против лептоспироза с адъювантом Маркол 52, с добавлением иммуностимулятора серноватистокислого натрия до 30%-ной

концентрации в вакцину (вакцина эмульгированная+серноватистокислый натрий). Интактные животные 5-й группы служили контролем.

Иммунизацию свиней 1-4 групп проводили согласно наставлению по применению гидроокисьюалюминиевой вакцины внутримышечно однократно (у основания уха с правой стороны) в дозе 6 мл. На 7-й, 14-й и 21-й дни после вакцинации от 4 животных из каждой группы брали кровь и получали сыворотку по общепринятой методике.

Лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК) изучали по В.Г. Дорофейчуку [3], бактерицидную активность (БАСК) – по О.В. Смирновой и Г.А. Кузьминой в модификации Ю.М. Маркова [1].

Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по методике А.И. Ивановой и Б.А. Чухловина [4], завершённый фагоцитоз - по О.Г. Алексеевой и А.Г. Волковой [2]. При этом выводили следующие показатели:

- процент фагоцитоза (ПФ) – процент фагоцитировавших нейтрофилов из общего числа подсчитанных;
- фагоцитарный индекс (ФИ) – среднее число фагоцитированных микробов на один подсчитанный нейтрофил;
- фагоцитарное число (ФЧ) – среднее число фагоцитированных микробов на один активный нейтрофил;
- процент переваривания (ПП) – отношение числа убитых микробов к общему числу фагоцитированных микробов;
- индекс переваривания (ИП) – среднее число убитых микробов на один подсчитанный нейтрофил.

Результаты исследований. Результаты исследований лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови (таблица 1) показали, что на 7-й день после вакцинации лизоцимная активность сыворотки крови у свиней, привитых гидроокисьюалюминиевой вакциной, была достоверно выше по сравнению с интактными животными в 1,7 раза, а также по сравнению с животными, иммунизированными эмульгированной и тиосульфатной вакцинами – в 1,8 и 1,5 раза соответственно. На 14-й день после вакцинации отмечалась аналогичная тенденция – лизоцимная активность сыворотки крови у животных 1-й группы была выше, чем у свиней 3-й и 5-й групп на 27,4% и 29,3% соответственно ($P < 0,05$). На 21-й день после вакцинации данный показатель достоверно повышался по сравнению с контролем у животных, иммунизированных тиосульфатной, эмульгированной и эмульгированной совместно с серноватистокислым натрием вакцинами на 36,4-51,5%, причем у свиней, привитых эмульгированной вакциной без и совместно с серноватистокислым натрием, лизоцимная активность сыворотки крови достоверно увеличивалась по сравнению с предыдущим сроком исследований в 1,6 и 1,5 раза соответственно.

Показатели бактерицидной активности сыворотки крови опытных и контрольных животных во все сроки исследований не имели достоверных отличий.

Таблица 1 – Показатели лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови свиней, вакцинированных против лептоспироза, % (M±m, P)

Группы животных	ЛАСК	БАСК
на 7-й день после вакцинации		
Вакцина ГОА	5,03±0,48 $P_{1-5} < 0,05$	55,80±3,85 $P_{1-5} > 0,05$
Вакцина тиосульфатная	3,40±0,42 $P_{1-2} < 0,05; P_{2-5} > 0,05$	50,13±2,16 $P_{1-2} > 0,05; P_{2-5} > 0,05$
Вакцина эмульгированная	2,85±0,20 $P_{1-3} < 0,01; P_{3-5} > 0,05$	59,53±2,89 $P_{1-3} > 0,05; P_{3-5} > 0,05$
Вакцина эмульгированная +серноватистокислый натрий	4,23±0,53 $P_{1-4} > 0,05; P_{4-5} > 0,05$	56,23±4,78 $P_{1-4} > 0,05; P_{4-5} > 0,05$
Контроль	3,00±0,48	54,78±4,47
на 14-й день после вакцинации		
Вакцина ГОА	4,33±0,14 $P_{>0,05}; P_{1-5} < 0,05$	55,58±4,16 $P_{>0,05}; P_{1-5} > 0,05$
Вакцина тиосульфатная	3,90±0,42 $P_{>0,05}; P_{1-2} > 0,05; P_{2-5} > 0,05$	52,68±3,40 $P_{>0,05}; P_{1-2} > 0,05; P_{2-5} > 0,05$
Вакцина эмульгированная	3,40±0,22 $P_{>0,05}; P_{1-3} < 0,05; P_{3-5} > 0,05$	58,60±4,58 $P_{>0,05}; P_{1-3} > 0,05; P_{3-5} > 0,05$
Вакцина эмульгированная +серноватистокислый натрий	3,60±0,34 $P_{>0,05}; P_{1-4} > 0,05; P_{4-5} > 0,05$	61,30±3,99 $P_{>0,05}; P_{1-4} > 0,05; P_{4-5} > 0,05$
Контроль	3,35±0,25 $P_{>0,05}$	51,95±2,56 $P_{>0,05}$
на 21-й день после вакцинации		
Вакцина ГОА	4,55±0,31 $P_{>0,05}; P_{1-5} > 0,05$	47,65±2,16 $P_{>0,05}; P_{1-5} > 0,05$
Вакцина тиосульфатная	4,95±0,37 $P_{>0,05}; P_{1-2} > 0,05; P_{2-5} < 0,05$	44,93±4,63 $P_{>0,05}; P_{1-2} > 0,05; P_{2-5} > 0,05$
Вакцина эмульгированная	5,50±0,28 $P_{<0,01}; P_{1-3} > 0,05; P_{3-5} < 0,01$	52,00±2,95 $P_{>0,05}; P_{1-3} > 0,05; P_{3-5} > 0,05$
Вакцина эмульгированная +серноватистокислый натрий	5,30±0,31 $P_{<0,01}; P_{1-4} > 0,05; P_{4-5} < 0,01$	55,10±5,48 $P_{>0,05}; P_{1-4} > 0,05; P_{4-5} > 0,05$
Контроль	3,63±0,28 $P_{>0,05}$	48,85±2,19 $P_{>0,05}$

Примечание: P – по сравнению с предыдущим сроком исследований;

P_{1-2} – 1-2 группы; P_{1-3} – 1-3 группы; P_{1-4} – 1-4 группы;

P_{1-5} – 1-5 группы; P_{2-5} – 2-5 группы; P_{3-5} – 3-5 группы; P_{4-5} – 4-5 группы.

Результаты исследований фагоцитарной активности нейтрофилов показали, что на 7-й день после вакцинации у животных, иммунизированных тиосульфатной, эмульгированной без и совместно с серноватистокислым натрием вакцинами наблюдалось достоверное увеличение по сравнению с животными других групп всех показателей незавершенного фагоцитоза. Так, процент фагоцитоза достоверно повышался по сравнению с животными контрольной группы на 32,08-49,17%, а также по сравнению с животными, иммунизированными гидроокисьалюминиевой вакциной – на 27,31-43,37%, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число достоверно повышались по сравнению с животными контрольной группы в 2,04-2,58 и 1,55-1,76 раз соответственно, а также по сравнению с животными, иммунизированными гидроокисьалюминиевой вакциной – в 1,97-2,49 и 1,50-1,70 раз соответственно. Процент переваривания у свиней всех опытных групп увеличивался по сравнению с невакцинированными животными на 27,03-55,55%. Индекс переваривания у свиней, иммунизированных тиосульфатной, эмульгированной без и совместно с иммуностимулятором серноватистокислым натрием достоверно повышался по сравнению с животными контрольной группы в 1,43-2,00 раза, а также по сравнению с животными, иммунизированными гидроокисьалюминиевой вакциной – в 1,47-2,05 раза.

На 14-й день после вакцинации у свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной без и совместно с иммуностимулятором серноватистокислым натрием, достоверно повышались процент фагоцитоза и индекс переваривания по сравнению с контрольными животными – на 15,25-22,03% и в 1,57-1,98 раза соответственно. Фагоцитарный индекс достоверно увеличивался у животных, вакцинированных эмульгированной вакциной совместно с серноватистокислым натрием, по сравнению с неиммунизированными животными – в 2,38 раза. Фагоцитарное число и процент переваривания у вакцинированных свиней всех групп достоверно повышались по сравнению с интактными животными – в 1,50-2,00 и в 1,56-1,64 раз соответственно (рис. 2).



Рис. 1. Выраженная фагоцитарная активность нейтрофила у свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной на 21-й день после вакцинации

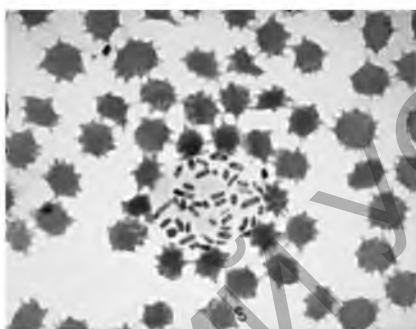


Рис. 2. Умеренная фагоцитарная активность нейтрофила у животных, иммунизированных гидроокисьалюминиевой вакциной на 14-й день после вакцинации



Рис. 3. Слабая фагоцитарная активность нейтрофилов у свиней контрольной группы

На 21-й день после вакцинации у свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной без и совместно с иммуностимулятором серноватистокислым натрием, все показатели незавершенного и завершеного фагоцитоза достоверно повышались по сравнению с невакцинированными животными. Так, процент фагоцитоза был выше на 23,14-41,49%, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число увеличивались в 3,49-3,93 и в 2,67-2,81 раз соответственно (рис.1), а процент и индекс переваривания повышались в 1,61-1,65 и в 2,22-2,39 раз соответственно. У свиней, иммунизированных тиосульфатной и гидроокисьалюминиевой вакциной, также отмечалось увеличение большинства показателей фагоцитарной активности нейтрофилов по сравнению с интактными животными (рис. 3).

Заключение. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что при иммунизации свиней против лептоспироза инактивированными поливалентными вакцинами, содержащими различные адъюванты, а также с применением иммуностимулятора серноватистокислового натрия отмечается достоверное повышение по сравнению с интактными животными показателей фагоцитарной активности нейтрофилов, а также лизоцимной активности сыворотки крови. При этом эмульгированная вакцина, содержащая в качестве адъюванта минеральное масло Маркол 52, в наибольшей степени повышает неспецифическую иммунную реактивность животных.

Литература. 1. Абрамов, С.С. Методические указания по определению естественной резистентности и путях ее повышения у молодняка сельскохозяйственных животных / С.С. Абрамов, А.Ф. Могиленко, А.И. Ятусевич; Витебский вет. ин-т. – Витебск, 1989. – С. 16-20. 2. Алексеева, О.Г. Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов крови в токсикологических экспериментах / О.Г. Алексеева, А.Г. Волкова // Гигиена и санитария. – 1966. - № 8. – С. 70-75. 3. Дорофейчук, В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В.Г. Дорофейчук // Лабораторное дело, 1963. - №1. – С.15. 4. Иванова, А.М. Методики определения поглотительной и переваривающей способности нейтрофилов / А.М. Иванова, Б.А. Чухловин // Лабораторное дело. – 1967. - № 10. – С. 610-614. 5. Иммунология: учеб. пособие / П.А. Красочко [и др.]; под ред. П.А. Красочко, Н.Д. Лисова. – Мн.: Аверсэв, 2005. – 128 с. 6. Новиков, Д.К. Медицинская иммунология / Д.К. Новиков. – 2-е изд., перераб. и доп. – Витебск : Изд-во ВГМУ, 1999. – 176 с. 7. Ройт, А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл // Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с., ил. 8. Сергеев, В.О. Вирусные вакцины / В.О. Сергеев. – Киев.: Урожай, 1993. – 368 с.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.