



УДК 616:616-07:616.15

З.А. Литвинова, Н.М. Мандро
Z.A. Litvinova, N.M. Mandro

ВЛИЯНИЕ КОСТНОМЗГОВОГО ПРЕПАРАТА НА ИММУНИТЕТ ПОРОСЯТ

THE EFFECT OF BONE MARROW PREPARATION ON PIGLET IMMUNITY

Ключевые слова: сальмонеллез, биостимуляторы, вакцинация, свиньи, белковый препарат костномозгового происхождения, кровь.

Для повышения сохранности поросят, эффективности специфической профилактики многие авторы рекомендуют использовать иммуномодулирующие препараты, в том числе животного происхождения (препараты из тимуса, молозива, плаценты, костного мозга). Большие перспективы имеют препараты костномозгового происхождения. Данные препараты стимулируют антителообразование, обладают иммуномодулирующим эффектом. Исследования, связанные с изучением влияния указанных препаратов на иммунитет поросят, не проводились. Целью исследований явилось определение влияния белкового препарата костномозгового происхождения на иммунитет поросят при вакцинации против сальмонеллеза. Сырьем для изготовления препарата явились трубчатые кости крупного рогатого скота. Белковый препарат вводили поросётам внутримышечно на фоне применения ассоциированной инактивированной вакцины против сальмонеллеза, пастереллеза и энтерококковой инфекции внутримышечно в дозах 0,4 мг/кг на 20-й и 27-й дни их жизни. В ходе исследования определён незначительный лимфоцитоз на фоне повышения базофилов и нейтропении с ядерным сдвигом вправо, а также уменьшением моноцитов. Отмечено достоверное увеличение к концу исследования фагоцитарной активности нейтрофилов на 8,99%, общего белка – на 12,16, иммуноглобулинов – на 11,14, γ-глобулинов – 6,19, бактерицидной активности сывороток крови – 10,45, лизоцимной активности сывороток крови – 16,88%. Титр специфических антител в опытной группе был выше контрольных значений после первого введения вакцины на 14,28%, после повторного – на 16,66%. Данные изменения свидетельствуют о повышении клеточных, биохимических и иммунных показателей крови организма вакцинированных против

сальмонеллёза поросят при использовании белкового препарата из клеток костного мозга крупного рогатого скота.

Keywords: salmonellosis, biostimulants, vaccination, pigs, bone marrow protein preparation, blood.

To improve the survival rates of piglets and the effectiveness of specific prevention, many authors recommend the use of immunomodulatory drugs including those of animal origin. The preparations of bone marrow origin have great prospects. These drugs stimulate antibody formation and have an immunomodulatory effect. The research goal was to determine the effect of a protein preparation of bone marrow origin on the immunity of piglets during vaccination against salmonellosis. The raw material for the preparation was the tubular bones of cattle. The protein preparation was administered to piglets intramuscularly against the background of the associated inactivated vaccine against salmonellosis, pasteurellosis and enterococcal infection intramuscularly at doses of 0.4 mg/kg on the 20th and 27th days of their life. During the study, a slight lymphocytosis was detected against the background of an increase in basophils and neutropenia with a nuclear shift to the right, as well as a decrease in monocytes. There was a significant increase in the phagocytic activity of neutrophils by 8.99%, total protein by 12.16%, immunoglobulins by 11.14%, gamma-globulins by 6.19%, bactericidal activity of blood serum by 10.45%, and lysozyme activity of blood serum by 16.88%. The titer of specific antibodies in the experimental group was higher than the control values after the first administration of the vaccine by 14.28%, after repeated administration - by 16.66%. These changes indicate an increase in the cellular, biochemical and immune parameters of the blood of the body of piglets vaccinated against salmonellosis when using a protein preparation from bovine bone marrow cells.

Литвинова Зоя Александровна, к.в.н., доцент, ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ, г. Благовещенск, Российская Федерация, e-mail: vseeim@dalgau.ru.

Мандро Николай Михайлович, д.в.н., профессор, ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ, г. Благовещенск, Российская Федерация, e-mail: mnm0351@mail.ru.

Litvinova Zoya Aleksandrovna, Cand. Vet. Sci., Assoc. Prof., Far Eastern State Agricultural University, Blagoveshchensk, Russian Federation, e-mail: vseeim@dalgau.ru.

Mandro Nikolay Mikhaylovich, Dr. Vet. Sci., Prof., Far Eastern State Agricultural University, Blagoveshchensk, Russian Federation, e-mail: mnm0351@mail.ru.

Введение

В условиях интенсивных технологий выращивания свиней часто регистрируются случаи заболевания и падежа поросят от сальмонеллеза, в том числе на фоне вакцинации. В этой связи важно проводить научную работу, направленную на разработку более совершенных методов и средств стимуляции иммунитета поросят, эффективности специфической профилактики данного заболевания [1, 2].

Ветеринарной практикой накоплен большой опыт использования иммунобиологических препаратов животного происхождения (препараты из тимуса, молозива, плаценты, кроветворно-лимфоидных органов) в профилактике инфекционных заболеваний [3-5]. Большие перспективы имеют препараты костномозгового происхождения. Результаты научных исследований по изучению влияния препаратов костномозгового происхождения на иммунитет животных отражены в работах В.В. Зарицкой (2004) [6], С.В. Гейн, Л.С. Лазуниной (2010) [7], В.А. Гришко, В.В. Малина, Ю.А. Балацкого с соавторами (2017) [8], Н.М. Мандро, Т.В. Федоренко (2016) [9]. Исследования, связанные с изучением влияния указанных препаратов на клеточные и гуморальные показатели иммунитета поросят на фоне специфической профилактики сальмонеллеза, не проводились.

Цель работы – изучение влияния белкового препарата костномозгового происхождения на клеточные, биохимические и иммунные показатели крови поросят при введении противосальмонеллезной вакцины.

Объект и методы

Препарат был получен из костного мозга крупного рогатого скота в соответствии с научно-практическими указаниями Т.В. Федоренко, Н.М. Мандро (2016). Биологическая активность и безвредность костномозгового препарата подтверждены предварительными исследованиями на лабораторных животных, в качестве которых были использованы беспородные белые мыши одного пола и возраста.

Для опыта от 6 вакцинированных против сальмонеллеза свиноматок отбирали по 3 гол. поросят в возрасте от 20 дней, всего 18 гол.

Лейкограмму изучали путем микрокопирования окрашенных мазков крови, количество лейкоцитов и эритроцитов определяли с использованием гематологического анализатора. Общий белок устанавливали рефрактометрическим методом, белковые фракции – способом электрофореза в геле агарозы, иммуноглобулины – в реакции с сульфатом цинка, бактерицидную активность сывороток крови – нефелометрическим способом, лизоцимную активность сыворотки крови – способом А.Г. Дорофейчука (1968), фагоцитарную активность – методом П.Н. Смирнова (1989). Каждая сыворотка крови исследована на наличие противосальмонеллезных антител в реакции агглютинации. Материалы исследований подвергались вариационно-статистической обработке с вычислением степени достоверности.

Экспериментальная часть

С целью вакцинации свиноматок и поросят использовали ассоциированную инактивированную вакцину против сальмонеллеза, пастереллеза и энтерококковой инфекции поросят, которую вводили животным согласно инструкции по применению. Одновременно с иммунизацией поросятам на 20-й и 27-й дни их жизни внутримышечно вводили белковый препарат в форме суспензии на 0,9%-ном физиологическом растворе из расчета 0,4 мг/кг. Отбор проб крови у животных осуществляли из кончиков хвостов перед введением препарата, перед 2-й иммунизацией (27-й день) и через 14 дней после вакцинации (40-й день).

Результаты исследований и их обсуждение

Перед применением препарата содержание эритроцитов в контрольной и подопытной группах животных составило $4,86 \pm 0,24 \times 10^{12}/л$ и $4,79 \pm 0,15 \times 10^{12}/л$. На 27-й день различие показателя в группе опыта в сравнении с контрольными данными составило 1,21%; на 40-й день – 2,54%. Количество лейкоцитов на 20-й день в контрольной и подопытной группах – соответственно, $8,61 \pm 1,13 \times 10^9/л$ и $8,24 \pm 0,35 \times 10^9/л$.

Различие показателя в подопытной группе поросят в сравнении с фоном установлено на 27-й день – 5,19%; на 40-й день исследования – 7,13%. Во все дни у животных подопытной группы уровень базофилов был выше фоновых значений, при этом статистически достоверное различие установлено на 40-й день – 18,33% ($p < 0,01$). Количество эозинофилов на фоне применения препаратов было ниже контрольных значений. Установлено положительное влияние препарата на уровень сегментоядерных нейтрофилов крови, однако достоверного различия с контролем не установлено. На 27-й день уровень палочкоядерных нейтрофилов в подопытной группе свиней был ниже контрольных значений на 30,46%, на 40-й день – на 28,03%. Установлен незначительный лимфоцитоз в крови у поросят подопытной группы. На 27-й день различие с контролем составило 3,74%, на 40-й день – 1,82%. Содержание моноцитов в подопытной группе молодняка было ниже контрольных значений на 27-й день на 23,18%, на 40-й – на 22,50%.

На фоне первого применения препарата фагоцитарная активность была выше фонового значения на 3,21%, при повторном введении различие достоверно составило 8,99%. Фагоцитарные индексы на 20-й день опыта достигли в контрольной и подопытной группах животных $4,12 \pm 1,14$ и $4,10 \pm 0,25\%$ соответственно. На 27-й день показатель был выше фона на 5,96%, на 40-й день – 5,15%.

Введение препарата на фоне первой иммунизации способствовало повышению общего белка, различие с контрольными данными на 7,26% ($p < 0,05$). При повторной иммунизации и введении препарата уровень общего белка достоверно был выше фона на 12,16%. У поросят подопытной группы уровень общего белка в конце исследования в сравнении с начальными показателями был выше в 1,17 раза. Применение препарата способствовало повышению альбуминовой фракции белка, однако показатели статистически не подтверждены. Использование

препарата не оказало существенного влияния на концентрацию α - и β -глобулинов в сыворотках крови животных. Положительная динамика роста γ -глобулинов отмечена на 27-й день опыта, различие с контрольными данными составило 5,99% ($p < 0,05$). Уровень гамма-глобулинов в сыворотках крови поросят на 40-й день в сравнении с показателями в контроле был выше на 6,18% ($p < 0,05$).

Различие уровня иммуноглобулинов на 27-й день в сыворотке крови поросят подопытной группы достоверно превышало фон на 7,46% ($p < 0,05$). Значительное увеличение показателя отмечено на 40-й день – 12,15% ($p < 0,01$). Уровень иммуноглобулинов у свиней подопытной группы в конце исследования был выше начальных показателей в 1,20 раза (табл. 1).

Уровень бактерицидной активности сывороток крови поросят достоверно превышал контрольные показатели на 27-й день исследования на 6,76%. На 40-й день различие с фоном составило 7,13% ($p < 0,05$).

Увеличение бактерицидной активности сывороток крови у поросят подопытной группы к концу эксперимента составило 97,47% (табл. 2).

Парентеральное введение белкового препарата отразилось на повышении лизоцимной активности сывороток крови животных (табл. 3). Высокое значение показатель имел на 40-й день, разница с контролем составила 16,88% ($p < 0,01$).

В 20-дневном возрасте у поросят контрольной и подопытной групп отмечено наличие противосальмонеллезных антител в титрах $1:57 \pm 0,12$ и $1:54 \pm 0,23$ соответственно. На 27-й день у поросят подопытной группы титр противосальмонеллезных антител составил $1:240 \pm 1,28$, при этом различие с контрольными контрольным значением 14,28%. Максимальное значение титра антител было установлено на 40-й день исследования. В конце эксперимента титр антител у животных подопытной группы был достоверно выше фона – 16,66%.

Таблица 1

Динамика иммуноглобулинов в сыворотках крови поросят, г/л

Группы		Дни		
		20-й	27-й	40-й
Контрольная, n=9	M±m	10,12±0,74	10,45±1,14	10,95±0,26
	%	100,00	100,00	100,00
Подопытная, n=9	M±m	10,08±0,23	11,23±1,16	12,17±0,15
	%	99,60	107,46*	112,16**

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – показатели достоверности в сравнении с контрольной группой.

Таблица 2

Динамика бактерицидной активности сывороток крови поросят, %

Группы		Дни		
		20-й	27-й	40-й
Контрольная, n=9	M±m	29,84±1,36	44,50±1,05	54,12±2,11
	%	100,00	100,00	100,00
Подопытная, n=9	M±m	29,36±1,25	47,51±2,31	57,98±1,62
	%	98,49	106,76*	107,13*

Примечание. *p<0,05 – показатель достоверности в сравнении с контрольной группой.

Таблица 3

Динамика лизоцимной активности сывороток крови поросят

Группы		Дни		
		20-й	27-й	40-й
Контрольная, n=9	M±m	9,57±0,48	12,42±1,56	15,81±2,13
	%	100,00	100,00	100,00
Подопытная, n=9	M±m	9,41±0,68	13,62±1,19	18,48±1,07
	%	98,32	109,66*	116,88**

Примечание. *p<0,05; **p<0,01 – показатели достоверности в сравнении с контрольной группой.

Заключение

Применение белкового препарата, полученного из клеток костного мозга, повышает уровень иммунного ответа организма поросят, в том числе на введение вакцины против сальмонеллезной инфекции. В крови поросят подопытной группы к концу эксперимента в сравнении с контролем установлено достоверное повышение фагоцитарной активности нейтрофилов на 8,99%, иммуноглобулинов – на 11,14, гамма-глобулинов – на 6,19, бактерицидной активности сывороток крови – на 10,45%, лизоцимной активности сывороток крови – на 16,88%. Титр специфических антител в опытной группе был выше контрольных значений после 1-го введения вакцины на 14,28%, после повторного введения – на 16,66%. Необходимо отметить, что использование препарата не выводило показатели гуморального и клеточного иммунитета за пределы физиологической нормы. Полученные результаты рекомендуются использовать при разработке профилактических мероприятий при сальмонеллезе.

В практическом плане исследование имеет определённое значение для внедрения препаратов на основе белков клеток костного мозга,

открывает перспективы для использования их в профилактики иммунодефицитных состояний, стимулировании антителообразования при вакцинации, сохранности сельскохозяйственных животных и птицы.

Библиографический список

1. Попов, В. С. Этиологические особенности иммунодефицитов у свиней в условиях промышленной технологии / В. С. Попов, Н. В. Самбуров, А. А. Зорикова – Текст: непосредственный // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2016. – № 4. – С. 63-67.
2. Баратов, М. О. Изучение эффективности применения иммуностимулирующих средств с целью совершенствования вакцинопрофилактики сальмонеллеза свиней / М. О. Баратов – Текст: непосредственный // Ветеринарный врач. – 2018. – № 6. – С. 47-51.
3. Кляпнев, А. В. Неспецифическая резистентность у новорожденных телят под влиянием Тимогена / А. В. Кляпнев, В. И. Великанов, Л. В. Харитонов. – Текст: непосредственный // Ученые записки КГАВМ им. Н. Э. Баумана. – 2016. – № 2. – С. 98-102.

4. Dzik, S., Miciński, B., Aitzhanova, I., et al. (2017). Properties of bovine colostrum and the possibilities of use. *Polish Annals of Medicine*. 24. 10. Doi: 1016/j.poamed.2017.03.004. (date of request: 13.11.2020).

5. Влияние иммуностимуляторов на основе тимуса и костного мозга на гормональный фон поросят-сосунов / В. А. Гришко, В. В. Малина, Ю. А. Балацкий [и др.] – Текст: непосредственный // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии – 2017. – № 1 (59). – С. 7-13

6. Зарицкая, В. В. Состав и структура клеточных популяций костного мозга лабораторных и сельскохозяйственных животных / В. В. Зарицкая – Текст: непосредственный // Биологические ресурсы российского Дальнего Востока. – Благовещенск: ДальГАУ, 2004. – С. 99-102.

7. Гейн, С. В. Влияние миелопептидов на функции эффекторов врождённого иммунитета / С. В. Гейн, Л. С. Лазунина – Текст: непосредственный // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии. – Пермь: Изд-во ПГУ, 2010. – С. 104-106.

8. Влияние иммуностимуляторов на основе тимуса и костного мозга на гормональный фон поросят-сосунов / В. А. Гришко, В. В. Малина, Ю. А. Балацкий [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – № 1 (59). – С. 7 -13.

9. Мандро, Н. М. Рекомендации по применению белкового препарата из клеток костного мозга / Н. М. Мандро, Т. В. Федоренко. – Благовещенск: Дальневосточный ГАУ, 2016. – 24 с. – Текст: непосредственный.

References

1. Popov, V. S. Etiologicheskie osobennosti immunodefitsitov u sviney v usloviyakh promyshlennoy tekhnologii / V. S. Popov, N. V. Samburov, A. A. Zorikova – Текст: непосредственный // Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii. – 2016. – No. 4. – S. 63-67.

2. Baratov, M. O. Izuchenie effektivnosti primeneniya immunostimuliruyushchikh sredstv s tselyu

sovershenstvovaniya vaksino profilaktiki salmonelleza sviney / M. O. Baratov – Текст: непосредственный // Veterinarnyy vrach. – 2018. – No. 6. – S. 47-51.

3. Klyapnev, A. V. Nespetsificheskaya rezistentnost u novorozhdennykh telyat pod vliyaniem Timogena / A. V. Klyapnev, V. I. Velikanov, L. V. Kharitonov. – Текст: непосредственный // Uchenye zapiski KGAVM im. N. E. Baumana. – 2016. – No. 2. – S. 98-102.

4. Dzik, S., Miciński, B., Aitzhanova, I., et al. (2017). Properties of bovine colostrum and the possibilities of use. *Polish Annals of Medicine*. 24. 10. Doi: 1016/j.poamed.2017.03.004. (date of request: 13.11.2020).

5. Vliyanie immunostimulyatorov na osnove timusa i kostnogo mozga na gormonalnyy fon porosyat-sosunov / V. A. Grishko, V. V. Malina, Yu. A. Balatskiy [i dr.] – Текст: непосредственный // Vestnik Bryanskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii – 2017. – No. 1 (59). – S. 7-13

6. Zaritskaya, V. V. Sostav i struktura kletochnykh populyatsiy kostnogo mozga laboratornykh i selskokhozyaystvennykh zhivotnykh / V. V. Zaritskaya – Текст: непосредственный // Biologicheskie resursy rossiyskogo Dalnego Vostoka. – Blagoveshchensk: DalGAU, 2004. – S. 99-102.

7. Geyn, S. V. Vliyanie mielopeptidov na funktsii effektorov vrozhdennoy immuniteta / S. V. Geyn, L. S. Lazunina – Текст: непосредственный // Fundamentalnye i prikladnye issledovaniya v biologii i ekologii. – Perm: Izd-vo PGU, 2010. – S. 104-106.

8. Vliyanie immunostimulyatorov na osnove timusa i kostnogo mozga na gormonalnyy fon porosyat-sosunov / V. A. Grishko, V. V. Malina, Yu. A. Balatskiy [i dr.]. – Текст: непосредственный // Vestnik Bryanskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii. – 2017. – No. 1 (59). – S. 7-13.

9. Mandro, N. M. Rekomendatsii po primeneniyu belkovogo preparata iz kletok kostnogo mozga / N. M. Mandro, T. V. Fedorenko. – Blagoveshchensk: Dalnevostochnyy GAU, 2016. – 24 s. – Текст: непосредственный.

