

PROPHYLACTIC AND ECONOMIC EFFICIENCY THE USE OF PROBIOTIC
PREPARATION BASED ON BACILLUS AT TRICHOPHYTOSIS

Aleshkevich V. N.¹, Krasochko P. A.², Murad Bechara Maalouf Tony¹

*EE «Vitebsk order «Badge of Honor» state Academy of Veterinary medicine», Vitebsk, Republic of Belarus;
RUE «Institute of experimental veterinary Institute S.N. Wirelesski», Minsk, Republic of Belarus*

The aim of our work was to study the preventive and economy-cal politicheskogo the effectiveness of the drug “Bacini at trichophytosis cattle.

The results of studies of prophylactic and economic efficiency of the drug politicheskogo “Bacini” when trihofitii cereals-tion of cattle. It is established that prophylactic efficacy in animals immunized with only the vaccine LTF -130, amounted to 91.7%, in the group of animals as a result of application of Batinica” together with the vaccine it was 100%. Sick calves were treated, tricoti-Tiina the vaccine is for therapeutic purposes and odnoklassnik iodine. The recovery time of infected animals was 30 days.

Economic efficiency of interventions for the prevention of tricho-fitii cattle when applying batinica conjunction with the three-oficinas vaccine on rouble of expenses amounted to 15.07 ruble without its applications – 3.36 ruble ruble cost.

Keywords: *dermatophytosis, calves, specific prevention, probiotic, butinyl, prophylactic efficacy, economic efficiency*

УДК: 619:616.98:578.828.11:636.2:576.31

РЕАКТИВНІСТЬ ОРГАНІЗМУ ЗА РОЗВИТКУ ІНФЕКЦІЙНОГО
ПРОЦЕСУ ПРИ ЛЕЙКОЗІ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Горбатенко С. К., Корнєйков О. М., Мягких Н. В., Зданєвич П. П.

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: leylab@vet.kharkov.ua*

Мандигра М. С.

Національна академія аграрних наук, м. Київ, Україна

Горбатенко В. П., Зоря К. О.

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна

На першому етапі розвитку інфекційного процесу при експериментальному лімфолейкозі встановлено лейкоцитоз з виразним лімфоцитозом, появу значної чисельності фагоцитуючих еозинофілів, у динаміці спостерігали перерозподіл лімфоцитів. Відзначаються ознаки імуносупресивного стану організму

Ключові слова: *лейкоз великої рогатої худоби, інфекційний процес, інфікування, імунна відповідь, гематологічні показники*

Значна чисельність хронічних інфекційних захворювань обумовлює прояв імуносупресивного стану тварин, що призводить не лише до зниження якості та обсягів продуктивності поголів'я, а й ускладнює проведення профілактично-оздоровчих заходів, втрату ефективності застосування засобів специфічної профілактики. При ряді інфекційних захворювань, особливо у випадках ураження органів кровотворної та імунокомпетентної системи, розвивається імуносупресивний стан, коли значно знижується рівень як гуморального, так і клітинного захисту. До збудників, що викликають захворювання з таким перебігом, відносяться вірус лейкозу ВРХ (BLV), імунодефіциту ВРХ (BIV) та спумавірус ВРХ (BFV) [1, 2]. Збудники вищезначених захворювань є генетично та антигенно спорідненими ретровірусами, що, вражаючи велику рогату худобу, обумовлюють повільний перебіг хвороби. Провідне місце при цьому належить, у першу чергу, одному з найпоширеніших у більшості країн світу з розвинутою тваринницькою галуззю хронічних вірусних захворювань, а саме лейкозу великої рогатої худоби [3, 4].

Успішність протилейкозних профілактично-оздоровчих заходів, а також і розробки засобів специфічної профілактики захворювання, залежить від чіткого розуміння динаміки розвитку інфекційного процесу, ролі гуморальних і клітинних факторів при формуванні змін імунної системи організму інфікованих тварин. Знання цих механізмів обумовлює роль клітинно-гуморальних факторів у системі розвитку інфекційного процесу, місце засобів специфічної профілактики захворювання в системі протипізоотичних заходів.

Метою цієї роботи є вивчення в динаміці на клітинно-гуморальному рівні механізму розвитку імуносупресивного стану в організмі інтактного молодняка великої рогатої худоби після підшкірної інюкуляції крові інфікованої вірусом лейкозу корови при клінічному прояві лімфо-лейкозу у останньої.

Матеріал та методи. У гострому досліді вивчали динаміку інфекційного процесу при експериментальному зараженні ВЛ ВРХ вільних від вищезначеного збудника тварин. У досліді використано 6 бичків 6-7 місячного віку. Експериментальних тварин піддано підшкірному зараженню з використанням крові гематологічно хворої на лімфолейкоз корови. Донор інфекційного матеріалу віком 6,5 років, чисельність клітин лейкоцитарної фракції становила 23 млн/см³ при співвідношенні лімфоцитів на рівні 86 %. Антитіла до вірусу лейкозу у сироватці крові донора реєстрували в реакції імунодифузії (РІД) при її кінцевому розведенні до 1:16. Стабілізовану 3,8 % розчином цитрату натрію кров гематологічно хворої корови інюкулювали підшкірно кожній дослідній тварині в серединній третині шиї в об'ємі 0,5 см³. Проби крові експериментальних тварин піддали серологічним (РІД з лейкозним антигеном), молекулярно-генетичним (ПЛР) і гематологічним дослідженням безпосередньо перед початком досліді. Головну умову допуску тварин до участі в експерименті становила відсутність в організмі антитіл до ВЛ ВРХ та збудника за наслідками серологічного та молекулярно-генетичного аналізу. У подальшому експериментальних тварин піддавали комплексу гематологічних і серологічних досліджень з інтервалом 4–6 діб протягом місяця, потім, з інтервалом 15 діб, до завершення шестимісячного терміну спостережень.

Гематологічними дослідженнями визначали динаміку та особливості клітинного імунітету. Для цього визначали чисельність Т- і В-лімфоцитів у реакціях спонтанного непрямого глобулінового та комплементарного розеткоутворювання мікрометодом по К.А. Лебедєву. Визначення титру гетероаглютинінів (ГГА) у сироватці крові проводили за методом О.Є. Галатюка; активність фагоцитозу – за методикою Чебаткевич Б.Н.; вміст великих гранулоцитів – за методикою К.П. Зака; динаміку клітинних змін у реакції бласттрансформації вивчали за методом Чернушенко-Когосова; визначали чисельність та співвідношення клітинних елементів периферійної крові, їх функціональних властивостей – ШОЕ, гемоглобін та інше за загальноприйнятою методикою [5, 6].

Отримані результати досліджень порівнювали з результативністю обстеження за вищезначеними методиками аналогічних проб з матеріалом інтактних тварин-аналогів.

Результати досліджень. У різні терміни, вказані у попередньому розділі, проведено аналіз кількісних показників елементів лейкоцитарної фракції периферичної крові експериментально інфікованих тварин на початку та впродовж експерименту. Результати аналізу наведено на рисунку 1.



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

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 добу та практично не змінюючись на протязі 4-х місяців спостережень.

Разом з визначенням змін у загальній чисельності клітин лейкоцитарної фракції впродовж експерименту провели гематологічний аналіз по вивченню змін у співвідношенні лімфоцитів, як елементів фракції. Матеріали про кількісні зміни чисельності лімфоцитів у пробах крові інфікованих тварин у порівнянні з аналогічними показниками, отриманими при дослідженні проб крові тварин-аналогів інтактної групи відображені на рисунку 2.

Наведені на рисунку 2 дані свідчать, що в момент інюкуляції крові гематологічно хворої на лімфолейкоз корови рівень лімфоцитів тварин дослідної групи становив 4,56 тис/мкл, та збільшуючись поступово в перші 4–6 діб спостережень, через 12 діб і пізніше вже стабільно перевищував стартові рівні майже у 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 на протязі спостережень упродовж 4-місячного терміну в межах значно нижчих, ніж у пробах крові дослідних тварин.

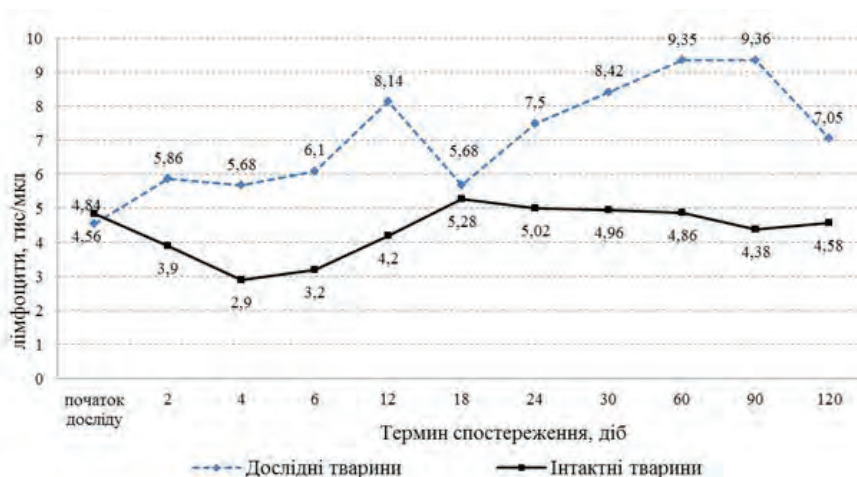


Рис. 2. Динаміка чисельності лімфоцитів при експериментальному інфікуванні тварин в окремі терміни спостереження

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 (рис. 3).

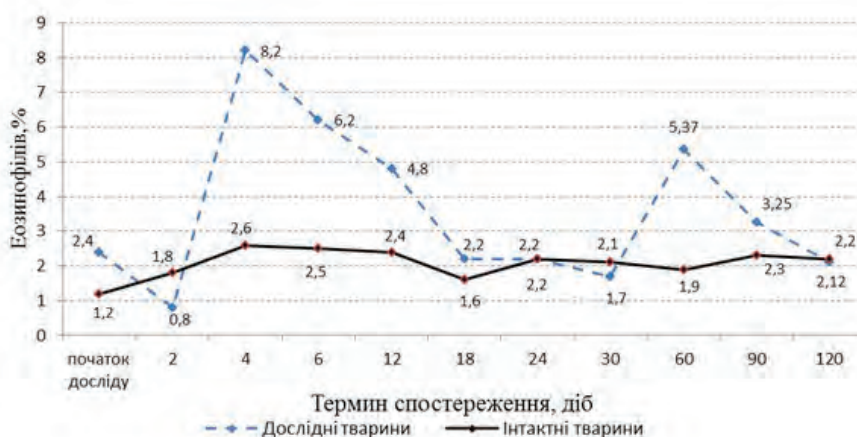


Рис. 3. Динаміка чисельності еозинофілів при експериментальному інфікуванні тварин в окремі терміни спостережень

При вивченні поглинаючої активності клітин еозинофільної групи відносно *Staphylococcus aureus* встановлено, що остання становила 18–20 мікробних тіл. Відмічено, що на 6 добу і пізніше активність цих клітин щодо фагоцитозу зменшилась до нульового показника, а їх чисельність встановилась, як це наведено в рисунку 3, 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 послідуючим поверненням цього показника до початкового рівня (16–18 %), тоді як у тварин контрольної групи цей показник залишається незмінним і відповідає початковому рівню (15–23 %). Це явище прямо корегувало з активністю трансформації клітин і фагоцитозу.

Як свідчать результати проведених досліджень, максимальний рівень активності фагоцитозу зафіксовано на 18 добі спостережень, при цьому був найвищий показник поглинання мікробних тіл і ферментативної активності полінуклеарів.

При вивченні гематологічних показників при експериментальному лейкозі нами визначено, що для першого етапу розвитку інфекційного періоду властиве явище якісного та кількісного перерозподілу клітин лейкоцитарної фракції. 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 інюкуляції вірусу в організм дослідних тварин. Дані про перерозподіл клітин лейкоцитарної фракції у процесі розвитку інфекційного процесу після інюкуляції інфекційного матеріалу інтактним тваринам наведені у таблиці 1.

Варто зауважити, що в перші 2–4 доби після інюкуляції 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 послідуючому цей показник підвищувався до 6–12 доби та був на рівні (21,7–29,2) %. Чисельність середніх лімфоцитів також різко знизилась у перші 2–4 дні спостережень до 9,3–9,4 % проти 38 % на початок дослідю.

Таблиця 1— Динаміка перерозподілу лімфоцитів при експериментальному відтворенні лейкозу

Лімфоцити по морфологічному признаку	До інфікування		Після інфікування, діб											
	2	4	6	12	18	24	30	45	60	75	90			
Дослідна група														
Великі	15,2±1,92	9,9±0,8	21,7±7,7	29,2±7,2	17,4±0,7	21,7±3,3	17,5±3,1	19,2±2,2	20,4±3,1	18,2±3,3	20,6±2,8			
Середні	38,1±10,4	9,4±1,2	48,2±7,6	32,4±3,2	27,4±4,4	29,4±6,4	31,2±5,4	24,3±3,2	23,2±2,9	24,2±4,3	25,6±3,2			
Малі	45,1±11,8	69,8±3,9	38,6±7,8	33,2±9,9	51,1±4,4	43,2±3,7	44,2±3,4	54,1±6,1	52,4±3,1	51,4±4,9	47,6±6,1			
ВГЛ	1,9±0,8	6,7±0,3	3,3±0,2	3,8±0,3	2,9±0,4	2,8±0,8	2,9±0,2	3,1±0,6	2,7±0,8	2,5±0,3	2,8±0,4			
Баластні	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,2±0,1	5,1±0,6			
Атипові	—	0,76±0,4	0,4±0,3	—	—	—	—	—	—	—	—			
Контрольна група														
Великі	9,8±1,8	14,2±0,9	4,7±1,2	н/д	13,9±0,6	10,3±0,4	9,7±0,5	10,6±1,3	12,6±0,9	10,6±0,8	10,2±0,8			
Середні	13,4±1,2	19,6±1,4	19,2±1,2	н/д	28,9±1,7	14,6±1,0	13,9±2,0	12,8±0,9	12,2±0,7	24,2±1,1	23,8±1,0			
Малі	72,4±3,3	62,4±3,6	60,7±4,3	н/д	46,1±9,1	73,1±4,4	74,2±7,0	72,3±4,2	73,2±5,2	68,4±7,4	70,4±4,8			
ВГЛ	1,6±0,51	2,9±0,5	2,6±0,5	н/д	2,8±0,5	2,0±0,17	2,2±0,3	1,8±0,2	2,1±0,2	1,94±0,2	2,0±0,7			
Баластні	—	—	—	н/д	—	—	—	—	—	—	—			
Атипові	—	—	—	н/д	—	—	—	—	—	—	—			

Що стосується середніх лімфоцитів, то на 6 добу спостережень відмічено зростання їх чисельності до рівня 48 %. У подальшому показник середніх лімфоцитів, повторюючи кількісні показники великих, стабілізувався до рівня 27–32 %, не перевищуючи стартові показники цих елементів лейкоцитарної фракції на момент початку дослідю.

Показники стосовно малих (Т-лімфоцитів) клітин лейкоцитарної фракції характеризувались короткочасним (2–4 доби) зростанням чисельності (69,8 % на 2 добу спостереження проти 45,1 % на період початку дослідю), 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 дослідю. Також слід зазначити появу в перші 6 діб після інфікування атипичних форм лімфоцитів, які зникли на 12 добу терміну спостережень, натомість на 75 добі з'являлись бласні форми лімфоцитів.

У групі інтактних тварин показники периферійної крові не зазнавали значних коливань у ті ж терміни спостережень, наявність атипичних і баластних форм лімфоцитів не спостерігалась.

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

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

Показник	до інфікування	Через, діб					
		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±6,1	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±0,6	3,0±0,8	2,2±0,76	2,8±0,7	2,6±0,6	2,6±0,3	2,6±0,4

Як свідчать наведені в таблиці 2 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.

Результати наших спостережень стосовно гуморальних змін в організмі підданих інфікуванню вірусом лейкозу тварин цілком узгоджуються з уже відомою динамікою сероконверсії при прояві інфекційного процесу лейкозу великої рогатої худоби. Протягом 6 тижнів спостережень антитіл до ВЛ ВРХ у пробах крові інфікованих тварин не фіксували. На 8 тижні спостережень антитіла виявлені у 4-х з 6 дослідних тварин на рівні від нативної сироватки до титру 1:2. На 10 тижні спостережень розвиток інфекційного процесу за гуморальними показниками фіксували серед усіх дослідних тварин. Причому, у залежності від індивідуальних особливостей, рівень антитіл коливався в окремих тварин від нативної сироватки до розведення 1:8.

Висновки. 1. На перших етапах розвитку інфекційного процесу реєструється підвищення чисельності клітин лейкоцитарної фракції з явищем лімфоцитозу. Фіксується поява значної кількості здатних до фагоцитозу клітин еозинофільної групи. Встановлено явище якісного та кількісного перерозподілу клітин лейкоцитарної фракції, які відповідальні за формування клітинної та гуморальної імунної відповіді.

2. Зниження чисельності великих та ріст співвідношення середніх лімфоцитів на 12–14 добу спостережень є свідченням початку розвитку імуносупресивного стану інфікованих вірусом лейкозу тварин вже на ранніх стадіях розвитку інфекційного процесу.

3. Прояв сероконверсії реєстровано у тварин експериментальної групи через 8–10 тижнів після інокуляції лімфоцитів гематологічно хворої на лімфолейкоз корови при дослідженні нативної сироватки крові та у її розведенні до 1:2–1:8.

Список літератури

1. Similar patterns of infection with bovine foamy virus in experimentally inoculated calves and sheep [Text] / Materniak M [et al.] // J Virol. – 2009. – N87 (6): 3516-25. doi: 10.1128/JVI.02447-12.
2. Immune Suppression in Calves with Bovine Immunodeficiency Virus [Text] / S. Zhang [et al.] // Virology P. – Mar. 1997. – Vol.4, No.2 p. – p. 232–235.
3. Лейкоз великої рогатої худоби [Текст] / Б. М. Ярчук [та ін.]. – К.: Б-ка вет. медицини, 2000. – 64 с.
4. A dose-effect relationship for deltaretrovirus-dependent leukemogenesis in sheep [Electronic resource] / C. Pomier [et al.] // Retrovirology. – 2009. – Vol. 6, № 1. — P. 30. — Mode to access : URL : <http://www.retrovirology.com/content/6/1/30>. – Title from the screen.
5. Методи оцінки стану імунної системи і факторів неспецифічної резистентності в ветеринарії [Текст]: посібник // В.Н. Чеботкевич [и др.]; под. общ. редакцией В.Н. Чеботкевич. – Санкт-Петербург, 1998. – 27 с.
6. Фримель Х., Брок Й. Основы иммунологии [Текст]: пер. с нем. под редакцией С.Н. Маца / Х. Фримель, Й. Брок. – М.: Мир, 1986. – 254 с.

REACTIVITY OF AN ORGANISM TO DEVELOPMENT OF THE INFECTIOUS PROCESS BY BOVINE LEUCOSIS

Gorbatenko S. K., Korneykov A. N., Myagkikh N. V., Zdanevich P. P.

National scientific center Institute of «Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

Mandygra M. S.

National Academy of Agrarian Sciences, Kyiv, Ukraine

Gorbatenko V. P., Zorya K. O.

Kharkiv State Zooveterinari Academy, Kharkiv, Ukraine

At the first stage of the infection during experimental lymphocytic leukemia it was found leukocytosis with significant lymphocytosis, the appearance of large numbers of phagocytic eosinophil and redistribution of lymphocytes. It was observed the signs of immunosuppressive state in infected organism.

Materials and Methods. A cell humoral reactivity was studied in animals with experimental leukemia through the results of hematological and serological investigations.

Results. On the 6th day of observation, the number of white blood cells increased to 7.24 thousand cells/ml and on day 12 to 9.56, reaching a maximum of 30 days, keeping within 4 months of observation. Lymphocytosis reaches a maximum value on 60-90 days of observations (9.35-9.36 thousand cells/ml, respectively). It was estimated the increasing of the number of eosinophils, on the 3-4 days after inoculation the emergence of phagocytic eosinophils was observed. The phagocytic activity cell against Staphylococcus aureus was 18-20 microbes. There was a phenomenon of qualitative and quantitative redistribution leukocyte cell fraction. Seroconversion to leukemia antigen was observed in animals from experimental group at 8-10 weeks of observation at the level of native serum titer 1:2 1:8.

Conclusions. 1. In the early stages of infection an increasing of the leukocyte cell fraction due to the phenomenon lymphocytosis was observed. An appearance of a large number of cells capable of phagocytosis eosinophilic group was indicated. It was found a phenomenon of qualitative and quantitative redistribution of leukocyte cell fraction, responsible for the providing of cellular and humoral immune response.

2. A reducing of the large lymphocytes number and ratio of medium lymphocytes on 12-14 days of observation is an evidence of early immunosuppressive status of animals infected with BLV in the early stages of infection.

3. Manifestation of the seroconversion was registered among animals in the experimental group after 8-10 weeks post inoculation with lymphocytes from sick on bovine leucosis cows by the study of native blood serum at the dilution of 1:2-1:8

Keywords: *bovine leucosis, infectious process, infection, immune response, hematologic parameters*