

Таким образом, данное исследование подтвердило эффективность применения раствора активного гипохлорита натрия при кишечной форме чумы собак, что было обеспечено его бактерицидным, иммуномодулирующим и, вероятно, противовирусным свойствами.

Литература

1. Эффективность применения раствора активного гипохлорита натрия при заболеваниях пищеварительной системы разной этиологии / П.П. Бердников [и др.] // Исследования по морфологии и физиологии с.-х. животных: сб. науч. тр. – Благовещенск: Изд-во ДальГАУ, 1999. – Вып. 12. – С. 102–107
2. Бердников П.П. Секреторная реакция пищеварительных желез в зависимости от вариантов применения растворов гипохлорита натрия // Вестн. ДальГАУ. – Благовещенск: Изд-во ДальГАУ, 2007. – Вып. 1 – С.85–92.



УДК 619:615.373:612.017

Н.Н. Шульга, М.А. Петрухин, Д.А. Желябовская

ПРИМЕНЕНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ КРОВИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ИММУННОГО СТАТУСА

В статье представлены результаты применения концентрированной сыворотки крови свиней для коррекции иммунного статуса поросят различных возрастных групп.

Опытным путем выявлена зависимость иммунного статуса поросят от содержания общего белка в сыворотке крови.

Ключевые слова: поросята, концентрированная сыворотка крови, криоконцентрирование, иммунный статус, иммунодефициты.

N.N. Shulga, M.A. Petrukhin, D.A. Zhelyabovskaya

APPLICATION OF INNOVATIVE BLOOD PREPARATIONS FOR CORRECTION OF IMMUNE STATUS

The results of the application of pigs' concentrated blood serum for correction of piglets' immune status in different age groups are given in the article.

Immune status of piglets is empirically found to depend on the content of total protein in blood serum.

Key words: piglets, concentrated blood serum, cryoconcentration, immune status, immunity deficiencies.

Известно, что система кровотока эволюционировала не только как средство переноса метаболитов, но и как вездесущее циркулирующее депо наиболее жизненно важных компонентов внутренней среды организма. Только циркуляция могла обеспечить их присутствие в нужный момент, в нужной концентрации, в нужной точке. Одинаковость «претензий» на экстренность и непрерывность доставки объединила в составе циркулирующей крови высших позвоночных слагаемых самого различного назначения: гемоглобин и факторы свертывания, гормоны и факторы комплемента, альбумины и многочисленные глобулины.

Синтез молекул антител инициируется и направляется стихийными антигенными воздействиями, как правило, патогенного характера. Поэтому иммуноглобулиновая система крови каждого индивидуума феноменальна в том смысле, что представлена совершенно оригинальным набором антител, отражающих персональную антигенную историю. Это история стихийно чередующихся в онтогенезе встреч конкретного организма со стихийным по качеству и количеству разнообразием антигенов. При этом стихийные антигенные факторы одновременно строго детерминированы в экологическом отношении [3].

Лечебные препараты, полученные из крови здоровых животных, в практике ветеринарной медицины применяют для повышения резистентности животных и профилактики иммунодефицитов. Такими препаратами являются гипериммунные сыворотки, аллогенные сыворотки крови и неспецифический гамма-глобулин [10].

В лаборатории вирусологии и иммунологии ГНУ ДальЗНИВИ Россельхозакадемии на основе аллогенных иммунных сывороток с применением технологии криоконцентрирования разработан сывороточный препарат КСК [12]. В процессе криоконцентрирования данного препарата следует соблюдать условие, при котором белковая составляющая исходной сыворотки будет находиться в растворенном незамороженном состоянии, не подвергаться кристаллизации.

Концентрированная сыворотка крови (КСК) является биопрепаратом, содержащим антитела в повышенной концентрации против всех патогенов, персистирующих на территории конкретных территорий, она содержит все биологически активные вещества в высокой концентрации, содержащиеся в нормальной сыворотке крови взрослых здоровых животных.

КСК восполняет организм животных питательными веществами, энергией, макро- и микроэлементами, ферментами, витаминами, гормонами, иммуноглобулинами в повышенной концентрации, повышает активность защитно-адаптационных механизмов, напряженность колострального иммунитета, способствует становлению функций и преодолению морфофункциональной незрелости молодняка животных.

Препарат оказывает как местное, так и общее стимулирующее действие на организм, повышает устойчивость к воздействию вредных факторов, предупреждает возникновение заболеваний и благоприятно влияет на рост и развитие организма. КСК является естественной тканью организма, поэтому она легко всасывается, оказывает полезное влияние и легко выводится из организма.

КСК содержит полный набор антител к заболеваниям, регистрируемым на географической территории обитания животных, из крови которых получен данный препарат [11].

В последние годы повсеместно наблюдается резкое снижение иммунного статуса молодняка свиней. Это связано с усилением воздействия на организм животных неблагоприятных факторов внешней среды и экологического неблагополучия. Наиболее сильно страдает молодняк [2].

Кроме первичных возрастных иммунодефицитов значительную роль в снижении иммунного статуса животных играют вторичные иммунодефициты, развивающиеся у матерей в результате экстремального влияния на них различных неблагополучных факторов. Почти любая патология является следствием иммунных нарушений, и это обстоятельство требует применения иммунокорректирующих средств, без которых быстрое и полное излечение животных невозможно. Применение иммунных препаратов должно быть направлено на устранение иммунодефицитов любой этиологии [5].

В свою очередь, иммунокоррекция должно опираться на достоверные показатели, характеризующие иммунный статус организма животных. Для оценки иммунного статуса часто применяются такие показатели, как общее количество лейкоцитов и лейкоформула, количество лимфоцитов, количество иммунных белков в сыворотках крови, количество циркулирующих иммунных комплексов, бактерицидная активность сыворотки крови, фагоцитарная активность нейтрофилов и др. [7].

В совокупности перечисленные методы исследования дают представление о состоянии иммунной системы животных, но проведение исследований возможно в специализированных лабораториях, при наличии специального оборудования, в условиях производства постановка вышеописанных тестов крайне затруднительна. Поэтому нами предложен метод оценки иммунного статуса по показателю общего белка в сыворотках крови. Данный метод позволяет быстро с достаточной степенью достоверности оценить состояние иммунитета у новорожденных животных.

Применение препарата КСК и экспериментальные исследования предложенного метода оценки иммунного статуса проведены на поросятах, так как в жизни поросят раннего возраста присутствуют три основных иммунодефицитных периода. Первый связан с недостаточным или несвоевременным поступлением с молозивом защитных факторов, а также незрелостью иммунной системы молодняка в раннем онтогенезе. Второй период иммунодефицита отмечается у поросят на 15-е сутки. Он связан со снижением гуморальных факторов, полученных с молозивом матерей, а в последующем – падением всех показателей иммунного статуса, включая клеточные. А также третий иммунодефицитный период, связанный с отъемом, когда снижается активность всех факторов иммунитета [8].

Материалы и методы исследований. При плановом убое клинически здоровых, предварительно проверенных на инфекционные и кровопаразитарные болезни свиней был проведен забор цельной крови. Кровь забирали согласно существующим ветеринарно-санитарным правилам. Из цельной крови изготавливали концентрированную сыворотку крови свиней согласно СТО ДальЗНИВИ 066884427-2007.

При этом из крови получали сыворотку, смешивали ее, помещали в пластиковую емкость и концентрировали путем медленного замораживания до минус 4 и минус 6°C и оттаивания при температуре плюс 18°C. При медленном замораживании сыворотки до минус 6°C растворитель (вода) замерзает в виде крупных кристаллов, между которыми располагаются не замершие компоненты сыворотки, которые при размораживании

стекают из перевернутой емкости первыми, а вода остается в емкости. При этом достигалась концентрация сыворотки крови в 2–6 раз. Затем концентрат консервировали, стерилизовали через бактериологические фильтры и расфасовывали в стерильные флаконы.

Для сравнения эффективности применения КСК пороссятам были проведены следующие исследования. Для определения иммунного статуса новорожденных пороссят в зависимости от уровня общего белка в сыворотке крови были сформированы по принципу аналогов две группы пороссят с содержанием общего белка до 50 г/л и выше 50 г/л, у которых брали кровь и определяли следующие показатели: общий белок сыворотки крови, содержание иммуноглобулинов, фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК). Проводили наблюдение за пороссятами в течение месяца. В этот период отмечали все случаи заболевания животных, количество погибших, определяли сохранность молодняка.

Для проведения эксперимента были созданы 6 групп пороссят (n=20). Первая группа новорожденных пороссят, которым перорально применяли КСК в дозе 5 мл/кг массы тела два раза в сутки в течение двух первых суток жизни. Вторая группа новорожденных пороссят служила контролем.

Третьей группе пороссят в возрасте 15-ти суток внутримышечно вводили КСК в дозе 1 мл/кг массы тела животного. Четвертая группа пороссят в 15-суточном возрасте служила контролем.

Пятой группе пороссят за неделю до отъема вводили КСК в дозе 1 мл/кг массы тела животного внутримышечно. Шестая группа пороссят перед отъемом служила контролем.

По истечении двух недель у всех групп пороссят брали кровь и определяли количество общего белка, иммуноглобулинов, фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК), сравнивали сохранность молодняка.

Общий белок в сыворотках крови определяли рефрактометрически, белковые фракции – электрофорезом в геле агарозы по методике В.М. Чекишева [9]. ФАН и БАСК определяли по методике П.Н. Смирнова [6].

Результаты и обсуждение исследований. За точку отсчета взят показатель 50 г/л общего белка в сыворотке крови, за границей которого неминуемо следует иммунодефицит. Общий белок легко определить в условиях ферм различных форм собственности, для работы необходим рефрактометр любой конструкции. Стоимость прибора невысока, поэтому его может приобрести каждый фермер. В таблице 1 представлены данные, характеризующие зависимость иммунного статуса пороссят от содержания общего белка в сыворотках крови.

Таблица 1

Зависимость иммунного статуса новорожденных пороссят от уровня общего белка в сыворотке крови

Общий белок, г/л	До 50 г/л	Выше 50 г/л
Имуноглобулины, г/л	13,2±0,50	20,1±0,40
ФАН, %	53,8±0,90	60,4±0,40
БАСК, %	26,1±0,40	31,6±0,40
Заболело животных, гол.	76	32
Погибло животных, гол.	42	13
Сохранность, %	58,00	87,00

Согласно данным новорожденные пороссята, в сыворотке крови которых общего белка было больше 50 г/л, имели лучшие показатели иммунного статуса и как следствие лучшую сохранность.

В основе перорального применения сывороточных иммунных средств лежит способность кишечника новорожденных животных с молозивным типом передачи антител от матерей потомкам, к абсорбции иммунных белков без расщепления на пептиды и аминокислоты.

Возможно, абсорбция иммуноглобулинов в интактном состоянии обусловлена рядом одновременно действующих факторов: низкая активность желудка вследствие недостаточного развития обкладочных клеток, вырабатывающих соляную кислоту, отсутствие ферментов, которые расщепляют белки; наличие ингибитора трипсина в молозиве; способность эпителия ворсинок тонкой кишки к пиноцитозу иммунных белков.

Среди кишечных эндокринных клеток выявлены К-клетки, продуцирующие гастроингибирующий пептид, оказывающий тормозящее влияние на секрецию пепсиногена главными клетками эпителия желудка и блокирующий выделение хлористоводородной кислоты обкладочными клетками желудочных желез [1].

В молозиве свиноматок выявлен ингибитор трипсина, 1 мл молозива ингибирует 2 мг кристаллического трипсина.

В апикальной части каемчатых эпителиоцитов новорожденных поросят выявлен комплекс, состоящий из канальцев, микропузырьков и вакуолей, имеющих связь с полостью кишечника. Такие клетки новорожденных способны поглощать нерасщепленные белковые молекулы, в особенности иммуноглобулины, которые, не подвергаясь гидролизу, попадают в кровь. Каемчатый эпителий новорожденных начинает свой жизненный цикл из делящихся стволовых клеток, находящихся в эпителии основания крипт, дифференцирующихся в предшественники боковой поверхности ворсин, гибель и вычленение клеток каемчатого эпителия происходит на вершине ворсины. Установлено, что среднее время полного обновления эпителиальных клеток ворсинок у мышевидных грызунов составляет 48 ч [4].

Таким образом, новорожденные поросята появляются на свет с плодным строением эпителия тонкого отдела кишечника, имеющего сложную систему канальцев, микропузырьков и вакуолей, способных транспортировать антитела матерей в интактном состоянии в кровь. К-клетки выделяют секрет, способствующий торможению секреции пепсина и соляной кислоты, в свою очередь в молозиве содержится ингибитор трипсина. Все эти факторы вместе обеспечивают абсорбцию иммунных белков молозива, и этот процесс заканчивается через 48 ч от рождения. Поэтому пероральное применение иммунных средств, включая КСК, целесообразно проводить в первые двое суток жизни поросят.

Пероральное применение КСК новорожденным поросятам оказалось весьма эффективным, особенно в сравнении с необработанными новорожденными поросятами. Результаты выпаивания КСК свиней новорожденным поросятам отражены в таблице 2.

Согласно таблице 2, поросята, которым выпаивали КСК свиней в дозе 5 мл, два раза в сутки, в течение двух первых суток жизни, имели более высокие показатели состояния иммунитета, реже заболели и, как следствие, имели лучшую сохранность по сравнению с контролем.

Таблица 2

Показатели иммунного статуса новорожденных поросят в результате выпаивания КСК свиней

Показатель	Опыт	Контроль
Общий белок, г/л	71,6±0,10	62,2±0,30
Иммуноглобулины, г/л	27,3±0,70	18,8±0,10
ФАН, %	60,4±0,10	50,8±0,90
БАСК, %	31,6±0,70	20,5±0,40
Сохранность до отъема, %	80,00	60,00

Поросята в 15-суточном возрасте переживают иммунодефицит, связанный с иссяканием молозивной материнской защиты и неокрепшей собственной иммунной защитой. Поэтому у них в крови наблюдается относительно пониженный уровень общего белка и иммуноглобулинов. В этот период очень важно поддерживать поросят иммунными препаратами, в частности, КСК свиней. Однократная внутримышечная инъекция препарата в дозе 1 мл/кг массы тела способна восстановить показатели иммунного статуса до естественных границ нормы. Результаты парентерального применения КСК свиней поросятам в 15-суточном возрасте отражены в таблице 3.

Таблица 3

Показатели иммунного статуса поросят в 15-суточном возрасте на фоне применения КСК свиней

Исследуемые показатели	Опыт	Контроль
Общий белок, г/л	57,5±0,70	53,2±0,60
Иммуноглобулины, г/л	17,7±0,40	12,7±0,30
ФАН, %	53,1±0,60	46,5±0,50
БАСК, %	28,4±0,10	21,7±0,30
Сохранность до отъема, %	100,00	80,00

Согласно таблице 3, обработанные КСК свиней поросята в 15-суточном возрасте имеют лучшие показатели иммунного статуса и, как следствие, лучшую сохранность по сравнению с контролем.

Наиболее сложный период в жизни поросят – отъем от матерей, в этот период резко снижается иммунный статус отъемных поросят, повышается заболеваемость и отход отъемных животных. Поэтому перед отъемом необходимо провести комплекс мероприятий, уменьшающих напряжение отъемного периода.

Для снижения негативных последствий отъема предлагаем использовать КСК свиней в виде внутримышечной инъекции в дозе 1 мл/кг масса тела однократно, при необходимости многократно до выздоровления животного. Результаты внутримышечного применения КСК свиней отъемным поросятам отражены в таблице 4.

Таблица 4

Показатели иммунного статуса поросят-отъемышей на фоне применения КСК свиней

Показатель	Опыт	Контроль
Общий белок, г/л	67,5±0,50	62,1±0,30
Иммуноглобулины, г/л	20,6±0,20	17,2±0,40
ФАН, %	58,4±0,50	43,5±0,30
БАСК, %	46,9±0,30	32,7±0,70
Сохранность, %	100,00	93,00

Согласно данным таблицы 4, отъемные поросята, обработанные КСК свиней, имели лучшие показатели иммунного статуса по сравнению с контролем и, как следствие, лучшую сохранность.

Заключение. В жизни поросят можно выделить три наиболее опасных периода. Первый – период новорожденности, когда жизнь новорожденных поросят всецело зависит от качества и количества материнского молока, второй период – возраст поросят 15 суток, когда молочивная материнская иммунная защита истощается, а своя иммунная система не может функционировать в полную силу. Третий – период отъема, когда резко снижаются все показатели иммунной защиты. В эти опасные с иммунной точки зрения периоды жизни поросят применение КСК свиней наиболее показано и эффективно.

Литература

1. Заварзин А.А. Основы сравнительной гистологии. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1985. – С. 65–71.
2. Золотухин С.Н., Пульчеровская Л.П., Каврук Л.С. Неспецифическая профилактика смешанной кишечной инфекции телят и поросят // Практик. – 2006. – № 6. – С.72–76.
3. Кветков В.П. Экологические иммунные препараты для ветеринарии и медицины. – Курган: Изд-во Курган. гос. пед. ин-та, 1992. – 176 с.
4. Козлов Н.А. Общая гистология. Ткани домашних млекопитающих животных. – СПб.: Лань, 2004. – С.21–27.
5. Петров А.М. Формирование колострального иммунитета у животных // Ветеринария. – 2006. – № 8. – С. 35–41.
6. Смирнов П.Н. Оценка естественной резистентности организма сельскохозяйственных животных: методика. – Новосибирск, 1989. – 20 с.
7. Староверов С.А., Сидоркин В.А., Семенов С.В. Влияние поверхностно активных веществ и витаминов на формирование иммунного ответа // Ветеринария. – 2003. – № 4. – С. 38–40.
8. Субботин В.В., Сидоров М.А. Основные элементы профилактики желудочно-кишечной патологии новорожденных животных // Ветеринария. – 2004. – № 1. – С. 3–6.
9. Чекишев В.М. Количественное определение иммуноглобулинов в сыворотке крови животных: метод. рекомендации / ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 1977. – 21 с.
10. Шульга Н.Н. Сывороточный препарат нового поколения КСК // Вестн. Рос. акад. с.-х. наук. – 2007. – № 1. – С. 85–86.
11. Шульга Н.Н. Криоконцентрирование сыворотки крови // Докл. Рос. акад. с.-х. наук. – 2009. – № 5. – С. 47–48.
12. Пат. 2125454 Российская Федерация, МПК 6 А 61 К 35/16, 39/00. Способ получения концентрированной сыворотки крови / Шульга Н.Н., Евсеенко Т.В.; заявитель и патентообладатель Дальневост. зон. науч.-исслед. ветер. ин-т. – № 98116395/13 ; заявл. 31.08.98; опубл. 20.12.99, Бюл. № 35. – С. 5.

