УДК 619:616.98:578.835.2

ІМУНОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІНФЕКЦІЙНОГО ГАСТРОЕНТЕРИТУ У ТЕЛЯТ РАННЬОГО ВІКУ

Ю. Р. Кравців

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Ґжицького

У статті наведено дані про імунний статус телят раннього віку при інфекційному гастроентериті. Показано вірогідну недостатність В-клітинної ланки імунітету, дисбаланс СД4$^+$/СД8$^+$-Т-клітин і порушення активності фагоцитозу в крові телят при гострих формах гастроентериту. Серед імуноглобулінів у телят раннього віку lgG представлений лише підкласом lgG$_1$ тоді як у телят 20-денного віку відсутній ізотоп захисних білків незалежно від клінічного стану організму появляється в мінімальній кількості. У телят 20-денного віку з наявністю діареї інфекційного походження не відмічено змін Т-клітинної ланки імунітету, а кількість В-лімфоцитів знижена.

Ключові слова: ТЕЛЯТА, ГАСТРОЕНТЕРИТ, Т-ЛІМФОЦИТИ, В-ЛІМФОЦИТИ, ФАГОЦИТОЗ.

Досягнення теоретичної імунології останніх десятиліть та запровадження імунологічних досліджень в клінічну практику сприяло уточненню багатьох уявлень про патогенез гострих шлунково-кишкових захворювань у телят. Особливості загального та локального імунітету у неонатальних телят дозволяє багатьом авторам зв'язувати виникнення гострих діарей різного походження у цих тварин з фізіологічною незрілістю та неповноцінністю функціонування імунної системи [1, 4, 9, 19].

За наявними даними існують суттєві різниці в початковому стані імунної системи та її подальшому становленні у телят, які народилися від корів з порушеним перебігом родів і післяродового періоду порівняно з телятами, народженими в нормальних умовах внутрішньоутробного розвитку [3, 20]. Відмічено, що при фізіологічному перебігу вагітності і родів у новонароджених телят імунний нагляд здатний протистояти масивній та швидкій колонізації мікроорганізмами, що відбувається протягом перших днів життя [2. 5, 12].

У вітчизняній літературі відсутні дослідження, присвячені вивченню імунного статусу телят при діареях, не враховуючи досліджень окремих показників імунітету у телят раннього віку з різним антенатальним розвитком, проведених в останні роки [6, 10, 13, 18].

Матеріали і методи

Дослідження імунного статусу телят, хворих розладами шлунково-кишкового тракту проводили в ТзОВ «Правда» Бродівського району Львівської області на 25 телятах чорно-рябої породи в перші тижні після народження. Контролем були клінічно здорові телята з нормальним імунофізіологічним статусом організму.

Імунологічне обстеження телят проводили за методиками, описаними у відповідних рекомендаціях [3, 11], з використанням стандартних тестів. Визначали кількісні та функціональні показники клітинного і гуморального імунітету, імунорегуляторної ланки, системи фагоцитів, рівня апоптозу [14, 19].

При оцінці клітинної ланки імунітету визначали кількість лейкоцитів, лімфоцитів, СДЗ-клітин, їх імунорегуляторних субпопуляцій (СД4$^+$ гелпери та СД8$^+$-супресори), імунорегуляторний індекс (ІРІ) — (СД4$^+$/СД8$^+$–клітини), а також вміст природних кілерів — (ТЧК-СД16+–клітини) на проточному цитофлюорометрі FACScan фірми Becton

Dickinson (США), з використанням комбінації моноклональних антитіл (МА) до диференціюючих і активаційних маркерів.

Гуморальну ланку імунітету оцінювали за відносним та абсолютним числом В-лімфоцитів (СД19^{+}–клітин), концентрації IgG, IgM і IgA у сироватці крові методом радіальної імунодифузії в гелі, а також рівню низькомолекулярних (осаджених 6 % ПЕГ) імунних комплексів.

Фагоцитарну активність нейтрофілів крові визначали з використанням інактивованої культури золотистого стафілокока. Оцінювали процент фагоцитуючих клітин і фагоцитарний індекс. Спонтанний і індукований рівень продукції активних форм кисню оцінювали за НСТ тестом методом спектрофотометрії.

Результати та обговорення

Дослідження показали, що у телят гострий період хвороби шлунково-кишкового тракту в перші дні життя супроводжувався достовірним зниженням відносної кількості Т-лімфоцитів переважно за рахунок зменшення числа СД4^{+}-клітин. Це, в свою чергу, спричинилося до зниження ІРІ (1,2 проти 2,7 у нормі), та рівня В-лімфоцитів (табл. 1), що свідчить про чітко виражену недостатність клітинного і гуморального імунітету. Аналіз рівня імуноглобулінів у сироватці крові також виявив суттєве зниження вмісту IgG при незмінних показниках IgM і IgA.

Таблиця 1

Імунологічні показники хворих і здорових телят 2-денного віку (M±m)

Показники	Новонароджені, 2 дні хворі (п=6)	Новонароджені здорові(п=6)
СД3^{+},%	44,2 ±2,16*	58,14 ±2,36
СД4^{+}, %	27,8 ±2,11*	42,23 ± 2,27
СД8^{+}, %	19,4 ± 1,72	20,32 ± 1,79
СД4/СД8 (ІРІ)	1,2	2,2
СД19^{+},%	4,8 ±0,12*	10,21 ±0,76
СД16^{+},%	4,2 ± 0,07*	5,6 ±0,12
IgG_1, г/л	3,5 ±0,01*	5,4 ±0,01
IgM, г/л	0,8 ±0,01	0,7 ± 0,05
lgA, г/л	0,5±0,01	0,6±0,01

Примітка: * — p<0,01

Аналіз таблиці 1 показує, що серед імуноглобулінів IgO у новонароджених телят обох груп представлений лише підклас IgG і, а IgC_2 відсутній, тоді як у телят 18–20-денного віку цей ізотип імуноглобулінів у мінімальній концентрації появився (табл. 2). Це може свідчити про те, що вже на ранніх стадіях розвитку в цьому віці цей захисний білок, який є характерним для тварин старших вікових груп, в організмі телят починає самостійно продукуватися. Разом з тим, вміст IgM у здорових телят цього віку порівняно з новонародженими зростає у 2 рази, що підтверджує відомості про те, що серед імуноглобулінів макроглобуліни (IgM) синтезуються першими в організмі людини і тварин.

Таблиця 2

Показники імунного статусу телят 18–20-денного віку, хворих гастроентеритом (M±m, п = 13)

Показники	Хворі (n=5)	Здорові (n=8)
СД3^{+},%	57,42 ± 2,76*	71,51 ±2,81
СД4^{+}, %	22,81 ±2,24*	36,73 ±2,16
СД8^{+}, %	10,43 ±0,82*	15,67± 1,13
СД4/СД8 (ІРІ)	2,2	2,2
СД19^{+},%	11,45 ±0,87*	19,63 ±0,91

СД16$^+$,%	14,11 ±0,08*	16,92 ±0,09
IgG_1, г/л	4,72 ±0,01*	5,76 ± 0,02
IgG_2, г/л	0,62 ±0,01*	0,79 ±0,01
lgM, г/л	0,87 ±0,01*	1,4 ±0,01
lgA, г/л	0,31 ±0,01*	0,43 ±0,01

У таблиці 2 наведені імунологічні показники телят 18–20-денного віку з наявною діареєю інфекційного походження. Отримані дані показали, що на відміну від новонароджених тварин у телят старшого віку були відсутні зміни Т-клітинного імунітету. В той же час рівень В-лімфоцитів був знижений, але на відміну від новонароджених з ознаками гострого гастроентериту зниження рівня СД19$^+$ було помірним і поєднувалося з дисімуноглобулінемією за рахунок зниження концентрації IgG і зростання IgM

Для оцінки функції фагоцитарної системи в організмі телят обох груп ми використали стандартні методи, які наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Фагоцитарна активність лейкоцитів хворих і здорових телят різного віку (M±m, п =13)

Показники	Телята хворі		Телята здорові	
	2 дні	18-20 днів	2 дні	18-20 днів
Фагоцитарна активність, %	2,34±1,2	39,6±2,1	36,8±1,4	46,8±2,4
Фагоцитарне число, %	36,7±1,9	49,8±2,4	56,2±2,9	58,2±3,1
Фагоцитарний індекс, *%*	3,6±0,1	5,1 ±0,1	4,6±0,1	5,5±0,1
НТС-спонтанний	150±3,8	170±4,9	180±4,2	200±5.9
НТС- індукований	175±4,6	190±5,7	190±6,1	250±7.8

Як видно з таблиці 3, телята, які хворі гастроентеритом, у цілому характеризувалися нормальними показниками фагоцитарної активності протягом всього періоду спостережень. Однак вивчення розподілу телят залежно від характеру змін функціональних характеристик фагоцитів показало, що практично у половини обстежених телят виявляється дефіцит фагоцитарної та оксидазної активності фагоцитів периферичної крові.

Оксидазна активність фагоцитів характеризувалася підвищенням рівня спонтанної активності, була зумовлена такими факторами, як перевантаження фагоцитуючих клітин захопленими мікробними тілами та виснаженням резервних можливостей активності мікробіцидної системи нейтрофілів.

Висновки

Телята з гострим перебігом гастроентериту характеризуються недостатністю клітинної та гуморальної ланок імунної системи, що супроводжується зниженням СД4$^+$ та СД8$^+$-Т-клітин і дефіцитом В-лімфоцитів. Одночасно відмічається зниження рівня IgG, при незмінній концентрації IgM і IgA. Такі відхилення досліджених показників свідчать про наявність імунодефіцитного стану і необхідність проведення імунокорекції.

Типовим відхиленням імунного статусу для більшості телят раннього віку з розладами шлунково-кишкового тракту є недостатність гуморальної ланки імунітету в поєднанні з дефіцитом процесів фагоцитозу, зумовлених, очевидно, перевантаженням фагоцитуючих клітин, захопленими мікроорганізмами та виснаженням резервних можливостей оксидазної активності бактерицидної системи нейтрофільних гранулоцитів.

Yu. Kravtsiv

IMMUNOBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF INFECTIOUS GASTROENTERITIS ON CALVES OF EARLY AGE

S u m m a r y

The author studied immunological parameters and phagocytosis in 28 neonates and infants calves with acute gastroenteritis. The study showed that neonates calves with diarrhea demonstrated significant insufficiency both in cellular and humoral immunity. Calves aged 1-20 days with developed diarrhea demonstrated significant depression of B-cells mediated immunity, imbalance of T-cells mediated immunity and disorders of phagocytosis.

Ю. Р. Кравцив

а

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФЕКЦИОННОГО ГАСТРОЭНТЕРИТА У ТЕЛЯТ РАННЕГО ВОЗРАСТА

А н н о т а ц и я

Изучены параметры иммунитета у телят раннего возраста больных острым гастроэнтеритом. Показано, что у новорожденных телят отмечается выраженная недостаточность клеточного и гуморального иммунитета. У больных телят диареей инфекционного происхождения в течение неонатального периода отмичается снижение В-клеточного звена иммунитета, дисбаланс Т-клеточной субпопуляций и нарушение активности фагоцитоза

1. *Кравців Ю. Р.* Функціональна активність нейтрофільних гранулоцитів у імунітеті неонатальних телят [Текст] / Кравців Ю. Р. // Наук. вісник ЛНАВМ та БТ. — 2007. — Т. 9 (32). — С. 42–49.

2. *Кравців Р. Й.* Молозиво і життєдіяльність неонатальних телят [Текст] / Кравців Р. Й., Кравців Ю. Р., Маслянко Р. П. // Сільський господар. — 2007. — № 11–12.

3. *Маслянко Р. П.* Епізоотичні основи імунітету неонатальних телят [Текст] : метод. рекомендації / Маслянко Р. П., Кравців Ю. Р. — Львів, 2007. — 28 с.

4. *Маслянко Р. П.* Становлення і розвиток імунологічної реактивності телят [Текст] / Маслянко Р. П., Флюнт Р. Б. // Біологія тварин. — 2007. — Т. 8. — № 1–2. — С. 42–48.

5. *Adkins B*. Neonatal adaptive immuny in calves of age [Text] / Adkins B., Lecklere C. // Nat. Rev. Immunol. — 2004. — V. 172. — P. 39–47.

6. *Akira S.* Pathogen recognition and innate immnity [Text] / Akira S., Uematsu S. // Cell. — 2006. — V. 124. — P. 783–801.

7. *Bevins C. L.* Events at the host-microbial interface of the gastroenteral tract [Text] / Bevins C. L. // Am. J.Physiol. — 2005. — V. 289. — P. G.I 73-G. 176.

8. *Costable P. D.*, Walker P. G. Clinical and laboratory assessment of hydratation status of neonatal calves with diarrhea [Text] / Costable P. D., Walker P. G. // J. Am. Vet. Assoc.— 1998. — V. 212. — P. 991–996.

9. *Crocker P. L.* Singles of innate immunity in calves [Text] / Crocker P. L. // Curr. Opin. Pharmacol. — 2005. — V. 7. — P. 431–437.

10. *Harris W. L.* Mechanisms of neonatal mucosal antibody production [Text] / Harris W. L., Spoerri J. // J. Exp.Med. — 2002. — V. 195. — P. F 19–F 23.

11. *Hopej C.* NK-like (СД8$^+$) Tcells in immunologically naive neonatal calves [Text] / Hopej C. // Immunobiology. — 1994. — V. 19. — P. 537–547.

12. *Kawai T.* Innate immune recognition of viral infection in calves [Text] / Kawai T., Akira S. // Nat. Immunol. — 2006. — V. 7. — P. 131–137.

13. *Kravtsiv Y.* Passive immunity against rotavirus in infants [Text] // Kravtsiv Y., Maslianko R. / Нук. вісник. — 2008. — Т. 10. — С. 142–149.

14. *Ohgi S.* Neonatal behavioural profile and crying in premature infants at term age [Text] / Ohgi S., Gima H., Akiyma T. // Acta Pediatr. — 2006. — V. 95. — P. 1461–1467.

15. *Pafon A. W.* A new family of potent ABS cytotox in produced by E. coli in calves [Text] / Pafon A. W., Srimonote U. M., Talbet H. et. al. // J. Exp. Immunol. — 2004. —

V. 200. — P. 35–46.

16. *Playford R. J.* Colostrum and milk - derived growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders [Text] / Playford R. J., Me Donald C. E., Johanson W. S. // Am. J. Clin. Nutr. — 2000. — V. 72. — P. 5–14.

17. *Sanderson J. R.* The role of TLRs nods in intestinal development andhomeostasis [Text] / Sanderson J. R., Walker W. A. // Am. J. Gastrointest. Physiol. — 2007. — V. 291. —P. 42–59.

18. *Tolbot U. V.* Protective immunization of calves with an active-site mutant of E. Coli [Text] / Tolbot U. V., Pater J. C. // Infect. Immun. — 2005. — V. 73. — P. 4432–4436.

19. *Wallums A. R.* Effects of a single dose of modified -live bovine rotavirus vaccine onresistance in calves [Text] / Wallums A. R. // J. Vet. Res. — 2004. — V. 65. — P. 363–372.

20. *Waylor I. M.* Neonatal ruminant diarrhea [Text] / Waylor I. M. // In. Smith B. P. ed. St. Lovis. — 2002. — P. 352–366.