

tions of treatment of respiratory diseases was found. Significant improvement of hematological indices (decrease of erythrocyte sedimentation rate, normalization of white blood cell number and leukogram indices) during the observation period was stated. Received data of leucogram and protein metabolism had positive prognostic significance and showed therapeutic efficacy of floricol and Flovet 30 %. Indirect influence of floricol, in contrast to Flovet 30 %, on the state of fermentative activity of pancreas was determined and showed no change in other biochemical indices during the observation period. The studies showed, that Flovet 30% and Floricol use for pigs, did not have immunopressory influence on their organisms. Increase of phagocytic activity of neutrophils at application of Flovet 30 % was determined. Results suggest that the bactericidal and lysozyme activity of blood serum were inverse direction. Found an optimization of humoral link of non-specific resistance during test.

Keywords: antimicrobial medicinal products, pigs, immune physiological state, haematological indices, blood serum, non-specific resistance.

Дата надходження до редакції: 22.04.2014 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Камбур М.Д.

УДК 639.215.2:615.375

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ГУМОРАЛЬНОГО ТА КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ КОРОПА ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІМУНОСТИМУЛЯТОРА «АМІКСИН»

В. О. Ушкалов, д.вет.н., Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

О. В. Крушельницька*, магістр ветеринарної медицини, пошукач, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

*Науковий керівник – д.вет.н. професор, член-кор. НААН В. О. Ушкалов

Наведено результати досліджень впливу імуностимулятора «Аміксин» на імунологічні показники. Вивчено взаємозв'язок між гуморальним та клітинним імунітетом при застосуванні імуностимулятора у різних дозах та часових діапазонах, а саме: встановлено зростання концентрації імуноглобулінів крові коропа при застосуванні препарату у порівнянні із контрольною групою, збільшення рівня імуноглобулінів, Т- і В-лімфоцитів, які були оптимальними за дози препарату 10 мг/кг маси риби та тривалості застосування препарату протягом 15-20 діб за відсутності змін у вмісті циркулюючих імунних комплексів.

Ключові слова: короп, кров, клітинний імунітет, гуморальний імунітет, імуностимулятор, «Аміксин».

Вступ. Промислове вирощування ставових видів риби на сьогодні для України є перспективним напрямком сільськогосподарського виробництва. Це зумовлено рядом об'єктивних чинників, у першу чергу – скороченням виловів риби у морській акваторії та природних водоймах із одночасним збільшенням попиту населення на повноцінний білок продуктів харчування [1, 2, 7].

У промисловому рибництві важливим моментом є зростання техногенного впливу на середовище існування водних організмів, який пригнічує функції імунної системи риби або сприяє розвитку реакцій гіперчутливості та аутоімунних реакцій через дисфункції механізмів регуляції імунної системи, тим самим беручи участь у порушенні гомеостазу організму риби [5-7, 10]. У результаті спостерігається збільшення кількості хворої риби, зростання інтенсивності ураження риби паразитами та сприйнятливості до умовно-патогенної мікрофлори [3, 4, 11].

Дослідження імунної системи риби дозволяє отримувати достовірну інформацію про її стан у природних умовах проживання та про якість середовища, а також проводити біотестування і біомоніторинг техногенного впливу на середовище проживання риби [4, 5, 12].

У зв'язку з напруженою екологічною ситуацією довкілля, в тому числі у водних екосистемах, актуальним є пошук екологічно безпечних імуномодуляторів, необхідних для забезпечення гомеостазу організму та його корекції [4, 6, 9, 10].

Метою роботи було дослідити вплив імуностимулятора «Аміксин» на фактори клітинного та гуморального імунітету коропа.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на коропах (*Cyprinus carpio*) в акваріальних умовах. Рибу для досліджень відбирали за принципом аналогів з урахуванням походження, живої маси, віку. Для адаптації до нових умов на протязі 21 доби рибу утримували в басейні, на початку експерименту розміщали в акваріумах об'ємом 200 л. В ємкостях була забезпечена аерація та механічна фільтрація води. Температура впродовж досліду незначно коливалась і складала $18 \pm 1,5$ °С. Основні гідрохімічні параметри відповідали рибницько-господарським нормативам. Дослідження проводили протягом 5 – 10-15-20 днів та за різного дозування препарату 5-10-15 мг/кг маси риби. Таким чином було сформовано 4 групи:

контрольна група – без застосування препарату «Аміксин»;

1 дослідна група – препарат «Аміксин» вносили в акваріум з розрахунку 5 мг/кг маси риби;

2 дослідна група – препарат «Аміксин» вносили в акваріум з розрахунку 10 мг/кг маси риби;

3 дослідна група – препарат «Аміксин» вносили в акваріум з розрахунку 15 мг/кг маси риби.

Аміксин - низькомолекулярна синтетична сполука ароматичного ряду з класу флуоренонів (дигідрохлорид 2,7-бис-[2-(диетіламіно)етоксі]-флуорен-9-она), індуктор інтерферону, стимулює утворення в організмі альфа, бета та гама інтерферонів. Основними структурами, які продукують інтерферон у відповідь на введення тилорону є клітини епітелію кишківника, гепатоцити, Т-лімфоцити, нейтрофіли та гранулоцити. Після застосування препарату внутрішньо максимум продукції інтерферону визначається у послідовності кишківник – печінка – кров через 4-24 години. Аміксин володіє імуностимулюючим та про-

тивірусним ефектом. Суттєво підвищує як загальний, так і місцевий види імунітету тварин та птиці [8].

Об'єктом дослідження була кров із серця коропа, у якій визначали рівень Т- і В-лімфоцитів, імуноглобулінів і циркулюючих імунних комплексів.

Результати дослідження та їх обговорення. При дослідженні впливу аміксину на загальну концентрацію Т-лімфоцитів встановили (таблиця 1), що їх рівень, порівняно із початком дослідження, починав зростати на 15-ту добу після застосування усіх запропонованих доз, а саме: у дозі 5 мг/кг – на 0,08 %; 10 мг/кг – на 2,04 % ($p < 0,01$) та 15 мг/кг – на 0,04 %. При використанні препарату протягом 20-ти діб тенденція до зростання зберігалася (у дозі 5 мг/кг – на 0,19 %; 10 мг/кг – на 1,26 % ($p < 0,05$) та 15 мг/кг – на 1,17 %).

Таблиця № 1

Концентрація Т- і В-лімфоцитів коропа при застосуванні імуностимулятора «Аміксин», % (M±m, n=10)

показники	доба	контроль	препарат «Аміксин»		
			доза 5мг/кг	доза 10мг/кг	доза 15мг/кг
загальні Т-лімфоцити, %	0	41,21±1,25	41,32±1,28	42,62±1,19	42,20±1,19
	5	41,36±1,17	42,14±1,29	44,90±1,26	44,03±1,56
	10	42,24±1,16	42,06±1,24	45,53±1,36	45,45±1,29
	15	40,30±1,18	41,24±1,19	44,66±1,29	42,24±1,25
	20	40,17±1,20	41,13±1,23	43,88±1,24	43,37±1,24
активні Т-лімфоцити, %	0	44,48±1,46	44,43±1,23	46,74±1,14	46,56±1,14
	5	42,37±1,26	43,36±1,24	45,32±1,35	45,26±1,28
	10	43,25±1,25	42,14±1,25	45,37±1,56	44,30±1,37
	15	42,47±1,23	41,22±1,24	46,45±1,29	44,65±1,29
	20	41,53±0,99	41,53±1,24	46,47±1,33	44,66±1,33
Т-хелпери, %	0	32,83±1,14	32,38±1,13	32,03±1,37	33,46±1,29
	5	32,73±1,25	32,41±1,24	32,69±1,48	32,50±1,47
	10	32,44±1,14	33,20±1,13	32,20±1,39	31,42±1,46
	15	35,63±1,24	35,27±1,07	35,02±1,11	34,39±1,37
	20	35,21±1,20	35,08±1,05	35,16±1,12	34,06±1,38
Т-супресори, %	0	11,49±0,58	11,29±0,58	12,23±0,83	12,13±0,68
	5	11,16±0,58	11,27±0,49	13,41±0,72	12,22±0,66
	10	10,74±0,85	11,26±0,40	12,89±0,68	11,51±0,70
	15	10,14±0,70	10,91±0,75	11,19±0,72	11,07±0,75
	20	10,55±0,44	9,27±0,40	10,70±0,85	10,67±0,90
В-лімфоцити, %	0	20,10±1,08	19,93±1,07	22,51±1,15	21,56±1,44
	5	21,36±1,07	20,59±1,08	24,36±1,36	23,46±1,43
	10	19,23±1,10	19,05±1,06	22,33±1,12	22,33±1,12
	15	20,21±0,74	19,71±1,33	24,91±1,37	24,53±1,36
	20	19,58±1,06	20,13±1,07	23,45±1,12	23,13±1,11

Примітки: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.

Подібна динаміка спостерігалась стосовно активних Т-лімфоцитів, які забезпечують основну функцію клітинного імунітету. Їх рівень порівняно із контрольною групою зростав на п'ятнадцяту добу при застосуванні препарату у дозі 10 мг/кг маси риби на 4,36 % ($p < 0,05$); у дозі 15 мг/кг маси риби на 1,94 % ($p < 0,05$), на двадцяту добу – на 3,71 % ($p < 0,01$) і на 3,20 % відповідно. Негативного впливу препарату «Аміксин» на регуляторні Т-клітини встановлено не було.

Імуностимулюючий вплив препарату «Аміксин» прослідковувався стосовно В-лімфоцитів. Досліджуючи рівень В-лімфоцитів крові коропа,

встановили, що при застосуванні препарату у дозі 10 мг/кг маси риби концентрація В-лімфоцитів крові коропа, порівняно із контрольною групою зростала на 3,68 % ($p < 0,01$) на 15-ту добу та на 5,12 % ($p < 0,001$) 20-ту добу експерименту. При застосуванні аміксину у дозі 15 мг/кг спостерігали зростання вмісту В-лімфоцитів порівняно із контрольною групою на 15-ту добу – на 3,1 % ($p < 0,01$) та на 20-ту добу – на 4,32 % ($p < 0,001$).

Динамічні зміни рівня В-лімфоцитів знайшли своє відображення у вмісті імуноглобулінів, оскільки джерелом плазматичних клітин – безпосе-

редніх попередників імуноглобулінів, є В-лімфоцитів. У результаті досліджень кількості імуноглобулінів сироватки крові коропа (табл. 2) було встановлено, що застосовуючи препарат «Аміксин» у кількості 5 мг/кг на 10-ту добу досліджень вміст імуноглобулінів становив $11,1 \pm 0,53$ г/л; на 15-ту добу – $12,1 \pm 0,65$ г/л та на

20-ту добу – $11,9 \pm 0,69$ г/л ($p < 0,01$).

При застосуванні препарату у дозі 10 мг/кг маси риби рівень імуноглобулінів порівняно із контролем збільшувався в 1,32; 1,68 та 1,54 рази відповідно на 10-ту, 15-ту та 20-ту добу експерименту.

Таблиця 2

Рівень імуноглобулінів сироватки крові коропа при застосуванні імуностимулятора «Аміксин», % ($M \pm m$, $n=10$)

показники	доба	контроль	препарат «Аміксин»		
			доза 5мг/кг	доза 10мг/кг	доза 15мг/кг
Ig	0	$8,0 \pm 0,35$	$8,0 \pm 0,39$	$8,8 \pm 0,38$	$8,4 \pm 0,37$
	5	$9,1 \pm 0,39$	$9,1 \pm 0,40$	$9,9 \pm 0,44$	$9,6 \pm 0,44$
	10	$9,0 \pm 0,37$	$11,1 \pm 0,53^{****}$	$11,9 \pm 0,63^{****}$	$10,4 \pm 0,54^{***}$
	15	$8,4 \pm 0,35$	$12,1 \pm 0,65^{****}$	$14,1 \pm 0,70^{****}$	$13,4 \pm 0,72^{****}$
	20	$8,3 \pm 0,40$	$11,9 \pm 0,69^{****}$	$12,8 \pm 0,67^{****}$	$13,8 \pm 0,76^{****}$

Досліджуючи концентрацію імуноглобулінів крові коропа при застосуванні препарату у дозі 15 мг/кг спостерігали її зростання порівняно із контрольною групою на 10-ту добу – в 1,16; на 15-ту добу – в 1,60 та на 20-ту добу – в 1,66 разів.

Доказом цього факту, є відсутність достовірних змін рівня циркулюючих імунних комплексів (таблиця 3) у запропонованих дозах «Аміксину» та тривалості його застосування.

Таблиця № 3

Рівень ЦІК сироватки крові коропа при застосуванні імуностимулятора «Аміксин», % ($M \pm m$, $n=10$)

показники	доба	контроль	препарат «Аміксин»		
			доза 5мг/кг	доза 10мг/кг	доза 15мг/кг
ЦІК, ммоль/л	0	$50,1 \pm 1,23$	$50,9 \pm 1,26$	$49,4 \pm 1,33$	$49,8 \pm 1,30$
	5	$50,4 \pm 1,26$	$50,3 \pm 1,24$	$51,0 \pm 1,22$	$51,2 \pm 1,22$
	10	$50,7 \pm 1,24$	$50,8 \pm 1,11$	$51,1 \pm 1,27$	$50,7 \pm 1,26$
	15	$51,0 \pm 1,21$	$51,2 \pm 1,27$	$50,3 \pm 1,26$	$49,9 \pm 1,26$
	20	$50,8 \pm 1,22$	$51,0 \pm 1,26$	$49,4 \pm 1,00$	$50,0 \pm 1,34$

Обговорення. При дослідженні впливу імуностимулятора «Аміксин» на рівень Т- і В-лімфоцитів коропа встановили, що їх співвідношення змінювалося залежно від дози та тривалості застосування препарату. Аналізуючи отримані дані в часовому діапазоні, спостерігалось достовірне зростання вмісту досліджуваних імунокомпетентних клітин на 15-20 день застосування препарату.

Дослідженнями не було встановлено негативного впливу препарату «Аміксин» на регуляторні Т-клітини, що вказує на нормальний перебіг регуляції імунної відповіді, оскільки Т-хелпери і Т-супресори впливають як на клітинний, так і на гуморальний імунітет.

Активізування біосинтезу імуноглобулінів вказує на зростання напруженості гуморального імунітету. Проте таке посилення гуморальної ланки імунної відповіді не є результатом зроста-

ючого антигенного навантаження оскільки дослід проводився в акваріальних умовах.

Доказом цього факту, є відсутність достовірних змін рівня циркулюючих імунних комплексів за різних доз «Аміксину» та періоду його застосування, враховуючи що циркулюючі імунні комплекси характеризують ступінь взаємодії комплексу антиген-антитіло в організмі тварин спрямований на елімінацію патогенів.

Висновки. 1. Застосування імуностимулюючого препарату «Аміксин» позитивно вплинуло на рівень показників клітинного та гуморального імунітету риби, що знайшло своє відображення у підвищенні рівня загальних Т-лімфоцитів, активних Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів та імуноглобулінів.

2. Ефективною імуностимулюючою дією була доза аміксину 10 мг/кг маси риби за тривалості застосування препарату протягом 15-20 діб.

Список використаної літератури:

1. Бех В.В., Осіпенко М.І., Томіленко В.Г., Кучеренко А.П., Павліщенко В.М., Олексик В.І., Шапошник В.Г. Малолускатий короп перспективний об'єкт аквакультури. Проблеми аквакультури и функционирования водных экосистем. Материалы международной научн.-практ. конференции молодых ученых, 25-28 февраля 2002 г. – Киев. – 2002. – С. 91-92.
2. Вовк Н.И., Бучачский Л.П., Пирус Р.И. Ихтиопатологический мониторинг внутренних водоемов Украины // Проблеми іхтиопатології. Матеріали I Всеукраїнської конференції. – К.: 2001. – С. 39-42.
3. Давыдов О.Н. Патология крови рыб / Давыдов О.Н., Темниханов Ю.Д., Куровская Л.Я. – К., 2005. – 210 с.
4. Иванов А. А. Физиология рыб / Иванов А.А. — М.: Мир, 2003. — 280 с.
5. Кондратьева И.А. Современные представления об иммунной системе рыб. Организация иммунной си-

стемы рыб // Вестн. Моск. ун-та, каф. физиологии микроорганизмов биол. ф-та МГУ им. М.В. Ломоносова / Кондратьева И.А., Киташова А.А., Ланге М.А. – Биология. – 2001. – № 4.– С.11-23.

6. Стрельников В.В. Взаимосвязи рабочей плодовитости с физиолого-биохимическими параметрами крови карповых рыб при искусственном разведении // Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2007. - Вып. 2 (5). – С. 83-90.

7. Профилактика и лечение бактериальных заболеваний рыб в рыбоводстве // Прудовое хозяйство / Трифонова Е.С., Бычкова Л.И., Юхименко Л.Н. и др.. – 2005. – № 6. – С. 32-35.

8. www.amixin.net/.

9. Bols N.C. Ecotoxicology and innate immunity in fish / N.C. Bols, J.L. Brubacher, R.C. Ganassin [and other] // Developmental and Comparative Immunology. – 2001. – Vol. 25. – P. 853-873.

10. Ganguly S. Application and effectiveness of immunostimulants, probiotics, and prebiotics in aquaculture: a review / S. Ganguly, I. Paul, S. Mukhopadhyay // Isr. J. Aquacult. – Bamidgeh. – 2010. – № 3 (62). – P. 130-138.

11. Serpunin G.G., Lihaceva O.A., Trzebiatowski R., Sadowski J., Odebralska D. Blood parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) kept in heated water culture at different feeding regimes // Acta scientiarum polonorum / Piscaria. – 1(2). – 2002. – P. 121-128.

12. Serpunin G. Blood parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) kept in heated water culture at different feeding regimes / G. Serpunin, O. Lihaceva, R. Trzebiatowski [and other] // Acta scientiarum polonorum / Piscaria. – № 1(2). – 2002. – P. 121-128.

Ушкалов В. А., Крушельницкая Е. В. Исследование показателей гуморального и клеточного иммунитета карпа при применении иммуностимулятора «Амиксин»

Приведены результаты исследований влияния иммуностимулятора «Амиксин» на иммунологические показатели. Изучена взаимосвязь между гуморальным и клеточным иммунитетом при применении иммуностимулятора в разных дозах и временных диапазонах, а именно: установлено увеличение уровня иммуноглобулинов, Т- и В - лимфоцитов, которые были оптимальными в дозе 10 мг/кг массы рыбы при отсутствии изменений в содержании циркулирующих иммунных комплексов.

Ключевые слова: карп, кровь, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, иммуностимулятор, «Амиксин».

Ushkalov V. A., Krushelnytska O. V. Study of humoral and cellular immunity of carp in the application of an immune stimulant "Amiksin"

There are given the results of research of immunostimulator "Amiksyn" influence on immunological indices. It is studied an interrelation between humoral and cell immunity under the using of immunomodulator at different doses and time ranges, namely it is determined an increasing of immunoglobulins, T- and B-lymphocytes level which were optimal at dose preparation of 10 mg/kg fish weight under the absence of changes in circulating immune complexes content.

Keywords: carp, blood, cellular immunity, humoral immunity, adjuvants, "Amixin."

Дата надходження до редакції: 19.06.2014 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Березовський В.А.