

**НАУКОВИЙ
ВІСНИК**

**НАЦІОНАЛЬНОГО
АГРАРНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ**

78

Київ - 2004

УДК: 636.5.087:612.05:631.57

ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОРМОВОГО ФАКТОРА

Л.М.СТЕПЧЕНКО, кандидат биологических наук

Днепропетровский государственный аграрный университет

В работе представлены данные о влиянии торфяного препарата гидрогумата на показатели гуморального иммунитета цыплят-бройлеров кросса "Кобб-500" по содержанию иммуноглобулинов классов G, M и A в сыворотке крови. Антисыворотки к IgG, IgM и IgA получены по модифицированной автором общепринятой методике.

В связи с бурным развитием отрасли бройлерного птицеводства в Украине важно не только знание структуры рациона и его детализация, но изучение и классификация биологически активных веществ (БАВ), которые при использовании их в качестве кормовой добавки влияют на конверсию корма. Предпочтение в этом случае, как правило, отдается тем БАВ, которые не накапливаются, а метаболизируются в организме и имеют высокую полифункциональную активность.

С этой точки зрения заслуживают внимания экологически чистые природные вещества из торфа. Известно, что торфяные гуминовые препараты влияют на различные стороны обмена веществ бройлерной птицы [1,2]. Эти препараты могут выступать как адаптогены к неблагоприятным факторам внешней и внутренней среды, а также участвовать в регуляции обмена веществ, в первую очередь белкового, за счет чего в организме птицы обеспечивается переход на уровень гомеостаза, который соответствует более высокой продуктивности [2,3,4]. Иммунологические характеристики гуминового препарата гидрогумата в настоящее время изучены недостаточно.

В связи с этим целью настоящего исследования является изучение влияния гидрогумата на состояние гуморального иммунитета цыплят-бройлеров по содержанию в сыворотке крови иммуноглобулинов классов G, M и A.

Материалы и методы исследований. Опыт проводили в условиях ЗАТ «Птицекомбинат «Днепропетровский» (г.Никополь, Днепропетровская область) на цыплятах-бройлерах кросса "Cobb-500". На фоне основного рациона цыплятам опытных групп скармливали торфяной препарат гидрогумат в оптимальной дозе в качестве кормовой добавки к основному рациону в период с 20-го по 40-й день выращивания.

По окончании срока выращивания в сыворотке крови цыплят-бройлеров определяли содержание общего белка микробиуретовым методом, а также иммуноглобулинов (Ig) классов G, M и A методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. При проведении реакции преципитации использовали антисыворотку, полученную от кроликов с помощью модифицированной методики [5]. Для иммунизации кроликов

© Л.М.Степченко, 2004

использовали фракции иммуноглобулинов IgG и IgM, выделенных из сыворотки крови, и IgA из желчи цыплят бройлерного типа, выращенных на рационе без применения биологически активных веществ.

Фракцию, содержащую иммуноглобулины класса G, получали из гамма-глобулиновой фракции методом хроматографии на колонке с ДЕАЕ – целлюлозой. В качестве элюента применяли 0,05 М фосфатный буфер. Белковую фракцию, содержащую IgM, получали из сыворотки крови птицы после осаждения 5%-м раствором ПЭГ и разделения растворенного осадка на колонке с сефадексом G-200. После рехроматографии фракций, полученных после нескольких разделений, чистоту их проверяли методом иммуноэлектрофореза с иммунодиффузией по Грабару и Вильямсу. Степень очистки IgG приближается к 100% , а IgM – к 80 %.

Фракцию Ig A получали из очищенной глобулиновой фракции желчи методами последовательного фракционирования сначала на колонке с сефадексом G-200, а затем на колонке с ДЕАЕ – целлюлозой, уравновешенной 0,001М Трис HCl буфером, pH 8,0 со ступенчатым градиентом NaCl от 0,05 до 0,5 М. Белковый пик, полученный после применения 0,3М раствора NaCl диализовали против бидистиллята. Степень очистки полученной фракции, содержащей Ig A, составляет 50%.

Антисыворотки к иммуноглобулинам получены после гипериммунизации кроликов очищенными препаратами из расчета 25 мкг/кг массы подкожно, всего 5 раз с интервалом в 14 дней. В качестве адьюванта применяли 1%-й раствор гипософилина.

Для определения количества IgG и IgM использовалась бивалентная

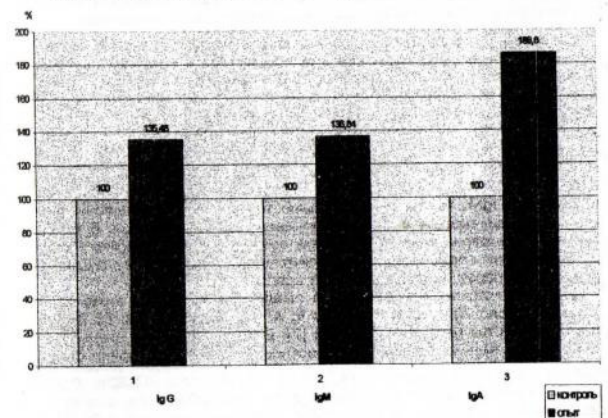


Рис. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови цыплят-бройлеров.

сыворотка, содержащая антитела к указанным классам иммуноглобулинов, позволяющая сократить затраты времени и препарата агарозы. Антисыворотка к IgA была истощена овальбумином и IgM.

Концентрация белка в антисыворотках составила для IgG – 12, IgM – 3,5, а IgA – 0,5 мг/мл.

Полученные данные обработаны методами статистического анализа с помощью программы Excel.

Результаты исследования. Ранее установлено, что препараты гуминовой природы при добавлении их к рациону в виде кормовой добавки активизируют процессы биосинтеза белка в организме цыплят [1,2,3]. При этом наблюдается увеличение содержания как общего белка в сыворотке крови цыплят быстрорастущего бройлерного типа, так и количественные изменения в отдельных белковых фракциях. Так, при скормливание препаратов из торфа - гидрогумата и гумината в оптимальных дозах концентрация общего белка в сыворотке крови бройлеров увеличивалась в среднем на 15-18% по сравнению с контролем [2]. Можно отметить также, что одновременно в сыворотке крови бройлеров происходит перераспределение фракций альбуминов и глобулинов с увеличением степени гетерогенности глобулиновых, в первую очередь, гамма-фракций [3]. Являясь частью белковой гамма-глобулиновой фракции, иммуноглобулины различных классов характеризуют иммунный статус птицы, в частности, состояние гуморального иммунитета. Именно поэтому, определение уровня иммуноглобулинов классов G, M и A в сыворотке крови цыплят может иметь значение для характеристики иммуномодулирующего действия препаратов гуминовой природы, известных своими адаптогенными характеристиками [1,6].

Из данных, представленных на рис., видно, что количество иммуноглобулинов различных классов возрастает в среднем на 40%. Необходимо отметить, что количество Ig G, главного комплекса антител, отвечающих почти на 90% за антиоксидантную, противобактериальную и противовирусную антигенную активность, возрастает у опытных цыплят в среднем на 36%. Интересным является тот факт, что количество иммуноглобулинов класса M, ответственных в организме за первичный иммунный ответ, также увеличивается на 36%, оставаясь в пределах физиологической нормы. Если сравнивать соотношение иммуноглобулинов классов IgG и IgM, то как у контрольных, так и у опытных цыплят оно практически одинаково и варьирует пределах 3,2-3,3 единицы. В то же самое время уровень секреторного IgA возрастает в сыворотке крови опытных цыплят, получавших дополнительно к основному рациону гуминовый препарат гидрогумат, почти вдвое.

Принято считать, что у птицы в сыворотке крови на долю Ig G приходится около 70%, Ig M – 30%, а Ig A – приблизительно до 3% от общего количества иммуноглобулинов [7]. В эксперименте у цыплят, не получавших кормовую добавку, это соотношение выглядит следующим образом: на Ig G приходится – 74,7; Ig M – 23,0; а Ig A – 2,33%. После введения в рацион цыплят торфяного препарата гидрогумата доля Ig G в сыворотке крови бройлеров составляет – 73,7% (-1%), Ig M – 22,8% (-0,2%), а количество Ig A возрастает на 1,2%. Известно, что Ig A содержится в лимфе, а также различных секретах, в том числе, слюне, желчи, кишечном соке, бронхиальных выделениях. Этот иммуноглобулин, как считают, несет

ответственность за защиту, в первую очередь, легочного и желудочно-кишечного путей от инфекции. Увеличение количества этого класса иммуноглобулина в сыворотке крови опытных цыплят как в абсолютном, так и процентном соотношениях может быть эффективно в системе защиты внешних и внутренних слизистых оболочек от проникновения антигенов различной природы.

В настоящее время большое значение при оценке гуморального иммунитета придается коэффициенту, отражающему отношение иммуноглобулинов классов IgA и IgM. В первую очередь это связано с тем, что IgA- это секреторный иммуноглобулин и, следовательно, характеризует защиту покровов и оболочек, а IgM – это иммуноглобулин, инициирующий иммунный ответ, т. к. он появляется на ранних стадиях взаимодействия антигена и антитела. Пентамер IgM, благодаря поливалентности, эффективно агглютинирует бактерии и, кроме того, запускает комплемент-зависимый цитоллиз, осуществляя главную защитную функцию при бактериемии.

Ig A в сыворотке крови в основном существует в мономерной форме, а в секретах представлен димером, соединенным с секреторным компонентом. IgA участвует в ингибировании процесса связывания нагруженных Ig микроорганизмов с поверхностью клеток слизистых оболочек и предотвращает проникновение этих микроорганизмов в ткани. При этом агрегированные иммуноглобулины соединяются с нейтрофилами и могут запустить новый альтернативный, отличающийся от классического, путь активации комплемента. Этот путь может обеспечить возникновение синергизма между IgA, комплементом и лизоцимом при уничтожении конкретных микроорганизмов. У контрольной птицы этот коэффициент равен 0,11 единицы, а у опытных бройлеров возрастает более, чем на 30%.

Выводы

Увеличение содержания иммуноглобулинов различных классов в сыворотке крови животных может быть обусловлено несколькими причинами, но этот процесс всегда связан с реакцией организма на внедрение антигена. С одной стороны, повышение способности организма вырабатывать иммуноглобулины может повысить его защитные функции, а с другой, может свидетельствовать о том, что используемый фактор, в данном случае препарат из торфа гидрогумат, может сам выступать как неспецифический антиген. При этом, как правило, повышается перекрестная неспецифическая резистентность, которая сопровождается лучшей приспособляемостью организма животных к различным факторам внешней и внутренней среды [6]. В свою очередь, этот факт обеспечивает повышение продуктивных качеств и сохранности сельскохозяйственной птицы.

Список литературы

1. Panina O., Zilyakova T. Increase of productivity of farm animals with the help of oxidate, a peat humic preparation // Moorthérapie 2000 / Peat Therapy on it's Way into the next Millennium. – Bad Kissinger, (Germany), 2000. - P. 233-244.
2. Степченко Л.М., Жорина Л.В., Кравцова Л.В. Влияние гумата натрия на обмен веществ и резистентность высокопродуктивной птицы // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. -1991.- №10 (334). -С.90-95.

3. Stephenko L., Chornaga V. Role of humic preparations in regulating protein metabolism of fast growing chicks. //: 10th International Peat Congress (27 may -2 june 1996, Bremen, Germany, Peat lands Use - Present, Past and Future. Vol.2.: Proceeding, editor Gerd W. Luttig,- Stuttgart, 1996.-P.555-558.
4. Csicsor J., Toth A. Application possibilities of peat and peat-humic acids in veterinary practice // Moortherapie 2000 / Peat Therapy on it's Way into the next Millenium. – Bad Kissinger, (Germany), 2000. - P. 67-79.
5. Колабская Л., Горецкая Т., Шорникова Л. Получение и применение моноспецифических сывороток // Научно-производственный опыт в птицеводстве. - Загорск.: ВНИТИП, 1987, №7. - С. 25-28.
6. Stepchenko L. The adaptive action of the peat preparations effect. // Surtainingaur Peatlands Program of the 11-th International Peat Congress, Volume II (Editor by Line Rochfort). Quebec, Canada, 2000. – P. 921-927.
7. Карпуть И.Н., Бабица М.П. Формирование иммунного статуса цыплят-бройлеров // Ветеринария. – 1996. - №6. – С.13-15.

В роботі представлені дані про вплив торф'яного препарату гідрогумату на показники гуморального імунітету курчат-бройлерів кросу "Кобб-500" за вмістом імуноглобулінів класів G, M та A у сировотці крові. Антисировотки до IgG, IgM та IgA отримані автором за рахунок модифікації загальноприйнятих методик.

There is presented dates about peat preparation hydrogumat influence on humoral immunity parameters of cross "Kobb-500" chicken-broilers according to content of immunoglobulins of classes G, M, and A in blood serum. Antiserums to IgG, IgM and IgA are resievd by modification of common accepted methodic.