

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

**ВЛИЯНИЕ НА ПОЛИБАКТЕРИАЛЕН ИМУНОМОДУЛАТОР ВЪРХУ
КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА СЕРУМНИЯ ЛИЗОЗИМ ПРИ НОВОРОДЕНИ
ТЕЛЕТА****Румен Караколев**

*Национален диагностичен научноизследователски ветеринарно-медицински институт
„Проф. д-р Г. Павлов” – София
E-mail: r_karakolev@mail.bg*

РЕЗЮМЕ

Целта на изследването е да се определи динамиката на лизозимната активност на кръвния серум на телета, третирани с полибактериален имуномодулятор, през първия месец от живота им.

Опитните животни са имунизирани през устата с полибактериален имуномодулятор в първите десет дни след раждането.

Нарастване на концентрациите на серумен лизозим се наблюдава от 8-ия ден след раждането. Това увеличение се запазва през целия първи месец от живота на телетата.

Установеното с настоящите опити повишаване на концентрациите на лизозим в кръвния серум на телета, третирани с полибактериален имуномодулятор, потвърждава схващането, че абсорбирането на липополизахариди, пептидогликани и други съставки от бактериални клетъчни стени върху мукозите на чревния тракт координира функциите на мукозната имунна система чрез мукозноасоциираната лимфна тъкан.

Получените от нас резултати дават възможност за по-задълбочени проучвания върху механизмите на това въздействие. Това ще доведе до по-широко приложение на имуномодулатори при новородени телета, с оглед повишаване на тяхната вродена имунна защита и ограничаване на употребата на антибиотици.

Ключови думи: телета, лизозим, полибактериален имуномодулятор

Лизозимът е основен неспецифичен фактор на имунната защита при новородени телета. Неговата концентрация в кръвния серум, наред с други специфични и неспецифични компоненти на вродения имунитет, определят нивото на естествената резистентност на организма и неговия здравен статус [7, 10]. Според някои автори [5, 9], серумното съдържание на лизозим зависи от породната принадлежност, условията на отглеждане, климатичните особености и други фактори. През първите дни от живота си организъмът на телето до голяма степен е беззащитен сред зао-

бикалящите го патогени. Известно е, че някои хуморални и клетъчни фактори на имунитета се повлияват под въздействие на компоненти от клетъчната стена на Грам-отрицателни бактерии: липополизахариди, пептидогликани, липопротеини, стимулиращи микро- и макрофагите, натуралните килърни клетки, образуването на антитела от В-лимфоцитите, синтезата на интерферон. Пептидогликаните, мурамилдипептидите и липотейхоевите киселини, съдържащи се в Грам-положителните бактерии, стимулират фагоцитозата, В- и Т-клетъчните функции [4, 8].

С настоящия експеримент си поставихме за цел да определим динамиката на лизозимната активност на кръвния серум на телета, третирани с полибактериален имуномодулатор, през първия месец от живота им.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Опитни животни

В опита включвахме новородени телета още от първия ден на живота им, които наблюдавахме в продължение на 30 дни. Телетата бяха от една кравеферма и се отглеждаха по един и същ начин, при еднакви условия. Във фермата е възприето новородените да се отделят от майките, а коластрата им да се дава чрез поилки. При тези условия обособихме две групи клинично здрави телета – опитна и контролна, за целите на опита. Контролната група се отглеждаше по съществуващия във фермата начин, а на опитната група допълнително се даваше и имуномодулатор.

Полибактериален имуномодулатор

Третиранието на опитните животни извършихме с получен от нас имуномодулатор, който съдържа в концентриран вид липополизахаридните съставки на термостабилния ендотоксин от Грам-отрицателни и Грам-положителни бактерии.

Приложение на имуномодулатора

Препаратът се прилагаше индивидуално за всяко опитно теле, перорално, заедно с коластрата или млякото, по следната схема: през първите три дни от раждането – по 10 ml сутрин и вечер; от 4-ия до 10-ия ден – по 10 ml сутрин.

Определяне съдържанието на лизозим

Концентрациите на серумен лизозим определяхме по метода на Lie и сътр. [6] с използването на 24-часова култура на *Micrococcus lysodeicticus*, термично инактивирана при 67°C. Към 2% агароза прибавяхме суспензията с тест-микророганизма и разливахме сте-

рилно в петриев чашки. След застиване на средата при стайна температура пробивахме 32 ямки с диаметър 5 mm. Във всяка ямка накапвахме по 50 µl неразреден серум. Петриевите чашки инкубирахме за 20 часа при 37°C и измервахме диаметрите на литичните зони. Съдържанието на лизозим намирахме по стандартна крива, построена с помощта на стандартни разтвори на лизозим (Sigma-Aldrich, USA, Lot SLBF1341V) и изразявахме стойностите като концентрации в µg/ml. Активността на β-лизина определяхме по модифициран от нас ускорен спектрофотометричен метод на Bucharin и сътр. [3], с тест-микроорганизъм *Bacillus subtilis* A465, при дължина на вълната 450 nm.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите за съдържанието на лизозим в кръвния серум на телетата от контролната и опитната групи са отразени в табл. 1. При контролните телета, неполучавали имуномодулатор, максимални стойности на лизозим установихме на 2-ия и 4-ия ден след раждане-

Таблица 1. Влияние на полибактериален имуномодулатор върху концентрацията на лизозим в кръвния серум на телета, ($P < 0,001$)

Table 1. Influence of polybacterial immunomodulator on the concentration of serum lysozyme in newborn calves, ($P < 0,001$)

Интервали на изследване (в дни)	Изследвани телета	
	Контролна група, n = 16	Опитна група, n = 22
	Lysozyme, µg/ml ($\bar{X} \pm S_x$)	Lysozyme, µg/ml ($\bar{X} \pm S_x$)
2	0,174 ± 0,045	0,142 ± 0,037
4	0,190 ± 0,036	0,138 ± 0,055
6	0,154 ± 0,047	0,160 ± 0,038
8	0,165 ± 0,081	0,284 ± 0,072
10	0,153 ± 0,028	0,456 ± 0,080
15	0,156 ± 0,014	0,510 ± 0,069
20	0,139 ± 0,055	0,602 ± 0,054
30	0,146 ± 0,025	0,548 ± 0,092

то – съответно 0,174 µg/ml и 0,190 µg/ml. При следващите измервания, концентрацията на лизозим не превишаваше тези стойности. На 10-ия ден, съдържанието на серумен лизозим беше 0,153 µg/ml, а на 30-ия ден – 0,146 µg/ml. По-високите нива на ензима в първите 2-4 дни след раждането, вероятно се дължат и на приеманата коластра от телетата.

При опитната група, третирана с полибактериален имуномодулятор, нивата на лизозим през първите дни след раждането бяха сравними с тези при контролите.

Нарастване на концентрациите на серумен лизозим наблюдавахме от 8-ия ден след раждането (респективно, 8-ми ден приемане на имуномодулатора) – 0,284 µg/ml, или с 41,90% повече, в сравнение с получената средна стойност при контролите.

При следващите интервали на изследване нивата на лизозим в кръвния серум на опитните телета се запазиха високи. Така на 15-ия ден средната стойност на лизозимна активност беше 0,510 µg/ml, а на 20-ия ден – 0,602 µg/ml. Тези стойности са 3 до 4 пъти по-високи, в сравнение със стойностите на показателя в контролната група.

Според редица автори [2, 4, 8, 10], въздействието на липополизахариди и други съставки от клетъчната стена на Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии върху мукозите на чревния тракт може да предизвика активизиране на някои фактори на неспецифичния имунен отговор. Такива са лизозим, интерферон, макрофагите, натуралните килърни клетки и др. Проведените от нас опити [1] с голям брой птици от различни категории показаха, че приложението на полибактериален имуномодулятор при подрастващи стокови носачки, родителски стада и пилета бройлери води до активизиране на естествената резистентност на организма, което също се изразява в повишаване на концентрациите на лизозим, комплемент и интерферони в кръвния серум, както и с повишаване нивата на яйчно-белтъчен лизозим.

Установеното с настоящите опити повишаване на концентрациите на лизозим в кръвния серум на телета, третирани с поли-

бактериален имуномодулятор, потвърждава схващането, че абсорбирането на липополизахариди, пептидогликани и други съставки от бактериални клетъчни стени върху мукозите на чревния тракт координира функциите на мукозната имунна система чрез мукозноасоциираната лимфна тъкан [8].

Получените от нас резултати дават възможност за по-задълбочени проучвания върху механизмите на това въздействие, в което най-вероятно участват Пайеровите плаки и Toll-like рецепторите. Това ще доведе до по-широко приложение на имуномодулатори при новородени телета, с оглед повишаване на тяхната вродена имунна защита и ограничаване на употребата на антибиотици.

ЛИТЕРАТУРА

Караколев, Р., 2014. Мукозен имунитет и имуномодулиране в съвременното птицевъдство. Научна монография, Изд. „Знак 94”. [1]

Караколев, Р., 2015. Динамика на бета-лизиновата и лизозимната активност в кръвния серум на новородени телета. Сборник доклади от научна конференция „Дни на науката – май 2015”, СУБ – клон Велико Търново. [2]

Bucharin, O. V., N. V. Vassilliev, 1977. Beta-lysin and its role in the clinical and experimental medicine. Tomsk. [3]

Frericks, J., 2013. Yeast cells and β-glucans – Multi-biotic factors for successful animal nutrition. All About Feed, Yeast Special, 21-22 [4]

Georguiev, I. P., B. L. Bivolarski, G. I. Kutsarov, Y. I. Iliev, T. M. Georguieva, 1996. Serum lysozyme activity in new-born calves and relationship to milk yield of their mothers. Revue de medecine veterinaire, 147, 583-586 [5]

Lie, O., H. Solbu, M. Sued, 1985. Improved agar plate assays of bovine lysozyme and haemolytic complement activity. In: Markers for resistance to infection in dairy cattle. Dissert. National Veterinary Institute, Oslo, Norway, 5, 1-12 [6]

Paulik, S., L. Slanina, M. Polacek, 1985. Lysozyme in colostrum and blood of calves and dairy cows. Vet. Med. (Praha), 30 (1), 21-28 [7]

Petrunov, B., P. Nenkov, R. Shekerdjiski, 2007. The role of immunostimulants in immunotherapy and immunoprophylaxis. Biotechnol. and Biotechnol. Eq., 21, 4, 454-462 [8]

Semerdjiev, V., L. Sotirov, T. Maslev, M. Iliev, K. Uzunova, G. Gerchev, I. Yankov, 2009. Breed-, age-, and gender-related features of lysozyme activity of sheep during the spring. *Agricultural science*, Volume I, 55-59 [9]

Siwicki, A. K., K. Kazun, A. Lepa, B. Kazun, 2011. Influence of 1,3-1,6- β -D-glucan (Leiber Beta-S) in diets on the effectiveness of anti-Enteric Redmouth Disease (AquaVac ERM) vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Centr. Eur. J. Immunol.*, 36, 212-214 [10]

INFLUENCE OF POLYBACTERIAL IMMUNOMODULATOR ON THE CONCENTRATION OF SERUM LYSOZYME IN NEWBORN CALVES

R. Karakolev

National Diagnostic and Research Veterinary Medical Institute "Prof. Dr. G. Pavlov" – Sofia

E-mail: r_karakolev@mail.bg

ABSTRACT

Lysozyme content in calf blood serum during the first month post birth is studied. The test group animals were immunized orally with polybacterial immunomodulator in the first ten days post birth. The lysozyme content in the blood serum of the test and the control group calves was determined between the 5th and the 30th day of their life. After the age of 8 days, in animals that have been administered the immunomodulator, an increase in lysozyme serum concentrations is observed, in comparison with the control group. This increase is permanent and is established during the entire first month of the calves' life.

The administration of polybacterial immunomodulator in the first 10 days post birth leads to an increase in the non-specific humoral defence (serum lysozyme) of the newborn calves' organism.

Key words: calves, lysozyme, polybacterial immunomodulator