

Keywords: epizootological monitoring, poultry pasteurellosis (cholera), clinical signs, anatomic pathological changes, bacteria, viruses, helminthes, associative diseases of poultry, bacterial and viral associations, bacterial and parasitic associations, bacterial associations

Дата надходження до редакції: 03.06.2014 р.
Рецензент: к.вет.н., професор Зон Г.А.

УДК 619:616.99:579.842.1/2:636.4

ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ КРОВІ ПОРОСЯТ ЗА СПОНТАННОГО ПЕРЕБІГУ АСОЦІЙОВАНОГО БАКТЕРІОЗУ ТА БАЛАНТИДІОЗУ

Р. А. Пеленьо, к.вет.н., доцент, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

В. В. Сتيبель, д.вет.н., професор, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

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

Дослідженнями визначено профіль цитокінів у крові поросят, хворих на шлунково-кишкові захворювання, спричинені балантидіями, умовно-патогенними мікроорганізмами та їх асоціацією. Встановлено, що вміст IL-1 α , IL-6 і IL-8 у крові поросят інвазованих балантидіями був вищим, порівняно із контролем, у 1,4, 2,5 та 2,14 рази, у поросят інфікованих умовно-патогенними бактеріями відповідно у 1,6, 2,75 та 2,79 рази і у поросят уражених асоціацією балантидій та умовно-патогенних бактерій у 2,2, 3,9 та 5,07 рази. Вміст у крові фактора некрозу пухлин α (ФНП- α) за інвазії поросят *Balantidium coli* змінювався порівняно з групою контролю на рівні статистичної похибки, в той час, як при інфікуванні поросят умовно-патогенними бактеріями зростав у 1,72 рази, а за поєданого зараження у 4,41 рази. Дослідження рівня в крові поросят IL-1 α , IL-6 IL-8 і ФНП- α можна використовувати в якості прогностичних показників виникнення шлунково-кишкових розладів, спричинених умовно-патогенними мікроорганізмами, балантидіями та їх асоціаціями.

Ключові слова: балантидіоз, *Balantidium coli*, умовно-патогенні бактерії, поросята, сироватка крові, цитокіни, IL-1 α , IL-6, IL-8, ФНП- α .

Відомо, що балантидії у кишечнику свиней часто введуть коменсальний спосіб життя. За порушення умов годівлі та утримання тварин паразити проникають у слизову оболонку кишечника, розмножуються у ній і створюють умови для росту і розвитку мікрофлори, значна частина якої представлена умовно-патогенними мікроорганізмами [1]. Це призводить до погіршення розщеплення поживних речовин корму у кишечнику, порушення процесів всмоктування, інактивації кишкових ферментів, інтоксикації організму і виникненню профузного проносу, який є основною клінічною ознакою балантидіозу. Відповіддю організму на вказані чинники є розвиток на місцевому рівні типової запальної реакції [2]. Саме тому, запалення слід розглядати як захисну реакцію організму на тканинне ушкодження, спрямовану на видалення (знищення) запального агента, власної пошкодженої тканини і на відновлення дефекту [4]. Адекватність реакцій на усіх етапах запалення регулюється за допомогою міжклітинних взаємодій шляхом синтезу різних медіаторів [8]. Універсальною поліморфною регуляторною мережею медіаторів є система цитокінів, що отримали назву інтерлейкінів (ІЛ), які забезпечують взаємозв'язок окремих видів лейкоцитів в імунній відповіді [3, 11], а також призначені для контролю процесів проліферації і диференціювання клітинних елементів в кровотворній, імунній і в інших гомеостатичних системах організму

[6]. Інтерлейкіни, які є «сім'єю молекул на всі випадки життя», втручаються в усі фізіологічні процеси, що протікають в організмі, у тому числі, ІЛ-1 β , що виділяється за антигенної стимуляції моноцитами, макрофагами та іншими антигенпрезентуючими клітинами [3, 10].

Метою наших досліджень було вивчити профіль цитокінів у крові поросят, хворих на шлунково-кишкові захворювання, спричинених балантидіями, умовно-патогенними мікроорганізмами і за поєданого впливу балантидій та умовно-патогенних мікроорганізмів і визначити можливість їх використання в якості прогностичних показників за вказаних патологічних станів.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили на 32 поросят віком 2-2,5 місяці. Діагностику кишкових протозозів здійснювали шляхом мікроскопії пофарбованих мазків виготовлених з калу після формалін-ефірного осадження за Рітчі в модифікації Аллена-Рідлі.

За результатами бактеріологічних і копрологічних досліджень було сформовано 4 групи по 8 тварин в кожній:

I група – здорові тварини; II група – тварини інвазовані *Balantidium coli*; III група – тварини інфіковані умовно-патогенними бактеріями (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. epidermidis*, *Y. enterocolitica*); IV група – тварини, заражені бактеріально-балансиційною асоціацією збудників.

Вміст інтерлейкінів (IL-1 α , IL-6 і IL-8) і фактор некрозу пухлин (ФНП- α) у крові визначали за допомогою твердофазового імуноферментного методу подвійних антитіл з використанням наборів моноклональних антитіл і реактивів ТОВ «Цитокін» (м. С.-Петербург, Росія).

При проведенні розрахунків попередньо оцінювали нормальність розподілу за допомогою тестів Шапіро-Уїлкса та Колмогорова-Смирнова. При нормальному розподілі кількісних перемінних для порівняння двох груп застосовували t-тест Стьюдента для незалежних вибірок. При порівнянні декількох груп, вірогідність різниці між усіма групами загалом визначалась за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу. Різницю між показниками тварин дослідних груп вважали віро-

гідною за $p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**) та $p \leq 0,001$ (***). Усі розрахунки робили на персональному комп'ютері за допомогою статистичної програми STATISTICA 7.0 (StatSoft, USA) [5].

Результати досліджень. Аналіз цитокиново-го профілю сироваток крові дослідних груп поросят наведений у таблиці. За проведення однофакторного дисперсійного аналізу було встановлено, що показник F, розрахований відносно вмісту в сироватці крові IL-1 α , IL-6 і IL-8, ФНП- α дорівнював відповідно 53,2; 33,2; 23,6 і 32,0, що виявилось вірогідним ($p < 0,01$). У такому випадку виключається нульова гіпотеза про те, що величини зазначених імунологічних показників поросят різних груп відносяться до однієї генеральної сукупності.

Таблиця

Цитокиновий профіль у поросят, хворих на шлунково-кишкові захворювання, що спричинені балантидіями та умовно-патогенними бактеріями, пг/см³, M \pm m, n=8

Показники	Групи тварин				Вірогідність різниці				
	I	II	III	IV	P _{I-II}	P _{I-III}	P _{I-IV}	P _{II-IV}	P _{III-IV}
IL-1 α	1,1 \pm 0,04	1,5 \pm 0,05	1,8 \pm 0,06	2,4 \pm 0,04	-	*	**	-	-
IL-6	2,0 \pm 0,12	4,3 \pm 0,28	5,5 \pm 0,33	7,8 \pm 0,37	-	***	***	***	-
IL-8	1,4 \pm 0,08	3,0 \pm 0,16	3,9 \pm 0,17	7,1 \pm 0,30	*	**	***	**	*
ФНП- α	2,2 \pm 0,10	2,4 \pm 0,12	3,8 \pm 0,15	9,7 \pm 0,26	-	-	*	*	*

З даних, наведених у таблиці, видно, що у сироватці крові клінічно здорових поросят вміст IL-1 α складає 1,1 \pm 0,1 пг/см³. У поросят інфікованих *Balantidium coli* вміст IL-1 α зростав порівняно із контрольною групою у 1,4 рази, інфікованих асоціаціями умовно-патогенних бактерій у 1,6 рази ($p < 0,05$) і за ураження шлунково-кишкового тракту, спричиненого асоціаціями умовно-патогенних бактерій з балантидіями у 2,2 рази ($p < 0,01$). Незначне зростання рівня IL-1 α в крові за роз'єданого зараження поросят балантидіями і асоціаціями мікроорганізмів свідчить про те, що навіть за незначного початкового токсичного стимулу вказаних організмів відбувається запуск синтезу монокінів (IL-1 α і фактора некрозу пухлин – ФНП- α), а лише поєднана дія токсинів балантидій і умовно-патогенних мікроорганізмів приводить до вірогідного зростання IL-1 α ($p < 0,01$).

Підтвердженням синтезу цитокінів за токсичного стимулу є і наростання у сироватках крові поросят IL-6, який належить до протизапальних чинників [9]. За інфікування поросят *Balantidium coli* вміст у сироватці крові IL-6 зростав порівняно із контрольною групою у 2,15 рази, за інфікування асоціаціями умовно-патогенних бактерій у 2,75 рази ($p \leq 0,001$) і за поєданого зараження асоціаціями умовно-патогенних бактерій з балантидіями у 3,9 рази ($p \leq 0,001$). Вірогідно вищою виявилася різниця за досліджуваним показником між II-ю і IV-ю групами поросят ($p \leq 0,001$). Таке високо-вірогідне наростання інтерлейкіну IL-6, за ураження шлунково-кишкового тракту, спричиненого асоціаціями умовно-патогенних бактерій з балантидіями відносно контролю свідчить про виникнення значних запальних процесів у кишечнику.

Посилення патологічного процесу за поєднаної дії досліджуваних чинників на організм поросят привело і до високовірогідного ($p \leq 0,001$) зростання у крові IL-8 порівняно із тваринами контрольної групи, у той час як в інших групах вірогідність була нижчою. Так, різниця між I-ю і II-ю групами та III-ю і IV-ю групами поросят становила $p < 0,05$, а між I-ю і III-ю та II-ю і IV-ю групами – $p < 0,01$.

Вміст у крові фактора некрозу пухлин (ФНП- α), який бере участь у розвитку багатьох захворювань і є типовим прозапальним цитокином, за інфікування поросят *Balantidium coli* змінювався порівняно з групою контролю на рівні статистичної похибки, зріс у 1,72 рази за інфікування поросят умовно-патогенними бактеріями і у 4,41 рази ($p \leq 0,001$) за поєданого зараження (III-я група).

Слід відмітити, що досліджувані цитокіни викликають адгезію нейтрофілів до ендотеліальних клітин, приймають участь у активації тромбоцитів, утворення численних вторинних медіаторів запалення, включаючи інші цитокіни, простагландини, лейкотрієни, протеази, які відповідають за розвиток запальної реакції в повному об'ємі [7].

Висновки. 1. У поросят з шлунково-кишковими розладами, спричиненими умовно-патогенними мікроорганізмами та балантидіями відмічаються зміни цитокинового профілю сироватки крові.

2. У інфікованих *Balantidium coli* поросят порівняно із здоровими тваринами зростав у 1,4 рази вміст у крові IL-1 α , у 2,15 рази вміст IL-6 і у 2,14 рази вміст IL-8. У поросят інфікованих асоціаціями умовно-патогенних бактерій вміст IL-1 α

зростав у 1,6 рази, і у 2,75 рази вміст IL-6, вміст IL-8 у 2,79 рази і у 1,72 рази ФНП-α. За ураження шлунково-кишкового тракту, спричиненого асоціаціями умовно-патогенних бактерій з балантидіями рази вміст IL-1α зростав у 2,2 рази, вміст IL-6 у 3,9, вміст IL-8 у 5,07 і у ФНП-α 4,41 рази.

3. Дослідження рівня в крові поросят IL-1α, IL-6 IL-8 і ФНП-α можна використовувати в якості прогностичних показників виникнення шлунково-кишкових розладів, спричинених умовно-патогенними мікроорганізмами, балантидіями та їх асоціаціями.

Список використаної літератури:

1. Айшпур О.Є. Особливості перебігу бактеріальних інфекцій поросят / О.Є. Айшпур, М.Ф. Курило // Вісник Сумського Державного аграрного університету. – 1999. – Вип. 4. – С. 9-11.
2. Головка А. Вивчення імунологічних показників при застосуванні комплексу антиген-антитіло з метою швидкого захисту тварин / А. Головка, В. Ушкалов, О. Кольчик // Ветеринарна медицина України. – 2004. - № 12. – С. 31-32.
3. Кнорринг Г.Ю. Цитокиновая сеть как мишень системной энзимотерапии / Г.Ю. Кнорринг // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 4. – С.45-49.
4. Майборода А.А. Иммуный ответ, воспаление / Майборода А.А., Кирдей Е.Г., Семинский И.Ж., Цибель Б.Н // Учебное пособие по общей патологии. – М.: Медпресс-информ, 2006. – 112 с.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: Меди Сфера. – 2002. – 312 с.
6. Сенников С.В. Аллельные варианты и изоформы цитокинов в диагностике и патогенезе иммунопатологических состояний / С.В. Сенников, А.Н. Силков, В.А. Козлов // Иммунология. - №4. – 2002. – с. 243-247.
7. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма А.С. Симбирцев //Цитокины и воспаление. – 2002. - № 1. – С. 9-16.
8. Шубич М.Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса М.Г.Шубич, М.Г.Авдеева // Архив патологии – 1997. - № 2. – с.3-8.
9. Curran C.L. Sepsis: What You Can Do to Improve the Oddsfor Your Patient / C.L. Curran, G.S. Martin, G.R. Bernard // Consultant 2001 (Jan). – P. 65-74
10. Jenkins K. Interleukin-4 suppresses IL-1-induced expression of matrix metalloproteinase-3 in human gingival fibroblasts / K.Jenkins, M.Javadi, R.C.Borghaei // J. Periodontol. – 2004. – Vol. 75, № 2. – P. 283-291.
11. Kottman L.M. Pelvic inflammatory disease: clinical overview / L.M. Kottman // J. Obsretr. Gynec. Neonatal. Nurs. – 2005. – Vol. 24. – P. 759-767.

Пеленё Р.А., Стибель В.В., Ушкалов В.О. Цитокиновый профиль сыворотки крови поросят при спонтанном течении ассоциированного бактериоза и балантидиоза.

*Исследованиями определено профиль цитокинов в крови поросят, больных желудочно-кишечные заболевания, вызванными балантидиями, условно-патогенными микроорганизмами и их ассоциациями. Установлено, что содержание IL-1α, IL-6 и IL-8 в крови поросят инвазированных балантидиями был выше по сравнению с контролем в 1,4, 2,5 и 2,14 раза, у поросят инфицированных условно-патогенными бактериями соответственно в 1,6, 2,75 и 2,79 раза и у поросят пораженных ассоциацией балантидий и условно-патогенных бактерий в 2,2, 3,9 и 5,07 раза. Содержание в крови фактора некроза опухоли (ФНО-α) при инвазии поросят *Balantidium coli* менялся по сравнению с группой контроля на уровне статистической погрешности, в то время, как при инфицировании поросят условно-патогенными бактериями был выше в 1,72 раза, а за сочетанного заражения в 4,41 раза.*

Ключевые слова: *Balantidium coli*, условно-патогенные бактерии, поросята, сыворотка крови, цитокины, IL-1α, IL-6, IL-8, ФНП-α.

Pelenjo R.A., Stybelj V.V., Ushkalov V.O. The cytokine profile of blood serum of piglets during spontaneous flow associated bacteriosis and balantidioza

*Thanks to the research it was defined the profile of cytokines in the blood of piglets suffering from diarrheal diseases caused with balantactions, conditionally pathogenic microorganisms and their association. It was set up that the content of IL-1α, IL-6 and IL-8 in the blood of piglets infested with balantactions was higher compared to the control, in 1,4, 2,5 and 2,14 times in piglets infected with conditionally-pathogenic bacteria, respectively, in 1,6, 2,75 and 2,79 times in piglets infected with affected balantactions and conditionally-pathogenic bacteria in 2,2, 3,9 and 5,07 times. Blood level of tumor necrosis factor α (TNF-α) by piglets invasion *Balantidium coli* was changed compared with the control group at the level of statistical error, while, as in piglets infected with conditionally-pathogenic bacteria increased in 1,72 times, and by the combined infection in 4,41 times.*

Keywords: *Balantidium coli*, conditionally-pathogenic bacteria, piglets, blood serum cytokines, IL-1α, IL-6, IL-8, TNF-α.

Дата надходження до редакції: 27.08.2014 р.
Рецензент: д.вет.н., професор Кассіч В.Ю.