

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ПОСТОЙ ВІКТОРІЯ ВІКТОРІВНА**

УДК 636.2.9:579:612.017.664.35

**ДИСЕРТАЦІЯ  
ОТРИМАННЯ ТРАНСФЕР-ФАКТОРА З ЛІМФОЦИТІВ МОЛОЗИВА  
КОРІВ ТА ЙОГО АДАПТОГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ**

16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та  
імунологія»  
(ветеринарні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ В. В. Постой

Науковий керівник:

**Скибіцький Володимир Гурійович,**  
доктор ветеринарних наук, професор

**Київ – 2021**

## АНОТАЦІЯ

**Постой В. В. Отримання трансфер-фактора з лімфоцитів молозива корів та його адаптогенні властивості. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2021.

Дисертаційну роботу присвячено удосконаленню методу отримання трансфер-фактора з лімфоцитів молозива і дослідженню його адаптогенних властивостей.

У дисертації відповідно до поставленої мети наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, що виявляється в експериментальному обґрунтуванні отримання біологічно активних зразків трансфер-фактора, специфічного щодо *Salmonella enterica* serovar Dublin; підтверджено його превентивну та протективну дію щодо захворювань травного каналу новонароджених телят у виробничих умовах.

Дисертантом встановлено, що одно- та дворазова імунізація тільних корів за місяць до отелення істотно впливає на обмін речовин та сприяє активізації клітинної ланки імунітету, що характеризується зростанням лейкоцитарного індексу та перерозподілу різних класів лейкоцитів у крові тільних корів. Дворазове введення вакцини тільним коровам сприяє більшій сенсibiliзації організму, що підвищує якісні показники трансфер-фактора виділеного із молозива цих тварин, зокрема, зростає показник інгібіції міграції лейкоцитів. Одноразове введення вакцини тільним коровам не істотно впливало на морфологічні показники крові, натомість дворазове введення вакцини супроводжувалося достовірним зростанням кількості еритроцитів ( $p < 0,01$ ). Показник лейкоцитарного індексу крові тільних корів після одноразового введення вакцини підвищується на 22,9 % ( $p < 0,05$ ), а у тварин, яким введення вакцини здійснювали дворазово – лише на 8 %. Встановлено достовірне

зниження вмісту глюкози та креатиніну в крові тільних корів на 13–28 % ( $p < 0,05$ – $0,01$ ) не залежно від рівня сенсibilізації організму та підвищення активності трансаміназ у 1,3–1,5 рази ( $p < 0,05$ – $0,001$ ).

Уперше із молозива сенсibilізованих корів отримано зразки трансфер-фактора специфічного щодо *Salmonella enterica* serovar Dublin, що індукує активний клітинний імунітет у алогенних і ксеногенних реципієнтів. Розроблено раціональну схему сенсibilізації корів-донорів трансфер-фактора специфічного щодо збудника сальмонельозу, суть якої полягає в тому, що для отримання високоактивної фракції діалізату лейкоцитів необхідно проводити дворазове введення вакцини.

У процесі виготовлення активного трансфер-фактора із сенсibilізованих лімфоцитів велику роль відіграє отримання гомогенної клітинної суспензії. Для підрахунку кількості таких клітин запропонована методика з використанням пластикових плоскодонних планшетів.

За допомогою удосконаленої методики отримано трансфер-фактор специфічний щодо збудника сальмонельозу телят, що здатен *in vitro* та *in vivo* переносити стан сенсibilізації реципієнтам та який не володіє видовою специфічністю. Вищою біологічною активністю володіють зразки трансфер-фактора специфічного щодо збудника сальмонельозу отримані із молозива корів введення вакцини яким проводили дворазово.

Проведено амінокислотний аналіз та здійснено фракціонування діалізного екстракту лімфоцитів отриманого з клітин молозива, визначено фракцію з найбільш високою імуногенною активністю.

Здійснено перенесення реакції гіперчутливості сповільненого типу до збудника сальмонельозу телят від сенсibilізованих корів до ксеногенних тварин (білих мишей) за допомогою трансфер-фактора отриманого з молозива корів, що підтверджено в позитивних реакціях міграції лейкоцитів та шкірної проби. За моделювання процесу розвитку гіперчутливості сповільненого типу в сенсibilізованих реципієнтів (білих мишей) у відповідь на введення алергену впродовж доби товщина шкірної складки збільшується в 1,64 рази ( $p < 0,001$ ) і стає

достовірно вищою ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з цими показниками мишей контрольної групи. Результати реакції інгібіції міграції лейкоцитів вказують на пригнічення міграції лейкоцитів під час контакту із сальмонельозним антигеном.

Доведено позитивний вплив отриманих зразків трансфер-фактора з лімфоцитів молозива на постнатальну адаптацію телят: зростав вміст лімфоцитів ( $F=4,41 > F_{U=3,40}$ ;  $p=0,023$ ), Т-лімфоцитів ( $F=80,8 > F_{U=2,8}$ ;  $p < 0,001$ ), Т-активних лімфоцитів ( $F=85,7 > F_{U=2,8}$ ;  $p < 0,001$ ), В-лімфоцитів ( $F=82,22 > F_{U=2,8}$ ;  $p < 0,001$ ), О-лімфоцитів ( $F=27,66 > F_{U=2,8}$ ;  $p=0,023$ ), Т-хелперів ( $F=85,21 > F_{U=2,8}$ ;  $p < 0,001$ ) і Т-супресорів ( $F=23,4 > F_{U=2,8}$ ;  $p < 0,001$ ). Відносна незрілість клітинної ланки імунного захисту новонароджених телят була підтверджена низьким показником фагоцитарного індексу (3,5–3,6 у.о.). Однак, уже до 21 доби життя телят показник фагоцитарної активності та фагоцитарного індексу нейтрофілів збільшується в середньому на третину ( $p < 0,001$ ). Встановлено, що трансфер-фактор, що надходить у організм телят впродовж перших діб життя, не лімітує кількість лейкоцитів у їхній крові ( $F=0,63 < F_{U=3,41}$ ;  $p=0,542$ ); вплив застосування трансфер-фактора на кількість В-лімфоцитів та О-лімфоцитів також був недостовірним. Натомість, застосування трансфер-фактора чинило істотний вплив на кількість лімфоцитів у крові телят ( $F=4,41 > F_{U=3,40}$ ;  $p=0,023$ ), зокрема, на вміст Т-лімфоцитів ( $F=6,86 > F_{U=3,19}$ ;  $p=0,002$ ) і Т-активних лімфоцитів ( $F=4,3 > F_{U=3,19}$ ;  $p=0,019$ ).

Застосування трансфер-фактора сприяє зсуву балансу між клітинною й гуморальною ланкою імунного захисту в бік активізації клітинної ланки, що свідчить про стимулюючий вплив введення трансфер-фактора на імунні реакції клітинного типу. Так, встановлено збільшення кількості лімфоцитів у крові ( $p < 0,05$ – $0,001$ ), зокрема, фракції Т-клітин (на 35–42 %;  $p < 0,001$ ), Т-активних клітин (на 47–58 %;  $p < 0,001$ ) і В-лімфоцитів (на 21–27 %;  $p < 0,05$ ).

Уперше встановлено стимулюючий вплив трансфер-фактора на фагоцитарну активність та фагоцитарний індекс нейтрофілів крові телят ( $F=3,5$ – $5,1 > F_{U=3,2}$ ;  $p=0,05$ – $0,01$ ), внаслідок чого ці показники вище на 13–25 % ( $p < 0,001$ ) від таких у тварин контрольної групи. Застосування телятам трансфер-

фактора, отриманого з лімфоцитів молозива від сенсibiliзованих корів, сприяє зростанню показника лейкоцитарного індексу крові від народження до сьомої доби життя на 16–19 % ( $p < 0,05–0,001$ ) від такого у тварин контрольної групи.

Застосування трансфер-фактора чинить достовірний вплив на вміст Т-хелперів у крові телят ( $F=8,79 > F_{U=3,19}$ ;  $p < 0,001$ ). Сила впливу трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива, на кількість Т-хелперів і Т-супресорів у 7-добових телят становила  $\eta^2=0,43–0,83$  ( $p < 0,05–0,001$ ). За такого впливу кількість цих клітин крові була вище на 29–43 % ( $p < 0,05–0,001$ ), ніж у тварин контрольної групи.

Уперше встановлено міжфакторну взаємодію між рівнем трансфер-фактора в організмі новонароджених телят із постнатальною адаптацією імунної системи ( $F=3,76–4,80 > F_{U=2,29–3,40}$ ;  $p < 0,05–0,01$ ), що вказує на вплив трансфер-фактора на інтенсивність постнатальної адаптації імунної системи телят.

Застосування трансфер-фактора разом з антидегідратаційними та антимікробними засобами сприяє підвищенню резистентності телят, зокрема, частота клінічних проявів хвороб травного каналу знижувалася до 40 %. Застосування трансфер-фактора знижує тривалість та полегшує перебіг хвороб травного каналу в телят. Зокрема, вже на другу добу лікування 50 % хворих тварин видужувало, а ще 20 % – на третю добу лікування. Смертність телят становила лише 2 %, а індекс збереження сягав 98 %.

Наукову новизну отриманих даних підтверджено патентом України на корисну модель «Спосіб профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту у новонароджених телят».

Результати дисертаційного дослідження можуть бути впроваджені як елементи біотехнології промислового виготовлення препаратів на основі трансфер-фактора отриманого з лімфоцитів молозива, специфічного щодо сальмонельозу та інших інфекційних хвороб.

**Ключові слова:** молозиво, трансфер-фактор, телята, імунітет, резистентність.

## ANNOTATION

**Postoi V. V. Obtaining transfer factor from lymphocytes of bovine colostrum and its adaptogenic properties.** – The manuscript.

The dissertation for a scientific degree of the Candidate of Veterinary Sciences by a specialty 16.00.03 “Veterinary microbiology, epizootology, infectious diseases and immunology”. National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the improvement of the method for obtaining transfer factor from colostrum lymphocytes and the studying of its adaptogenic properties.

In the dissertation, in accordance with the set goal, the theoretical generalization and the new decision of a scientific problem is given, which is shown in the experimental substantiation of the obtaining of biologically active samples of transfer factor specific for *Salmonella enterica* serovar Dublin; its immunomodulatory and protective effect regarding diseases of the digestive tract in newborn calves under industrial conditions has been confirmed.

The author has found that one-time and two-time immunization of pregnant cows a month before calving significantly affects metabolism and promotes activation of the cellular immune system, which is characterized by an increase in leukocyte index and redistribution of different classes of leukocytes in the blood of pregnant cows. Two-time vaccine administration to pregnant cows contributes to greater sensitization of the body, which increases the quality indicators of the transfer factor obtained from the colostrum of these animals, in particular, increases the indicator of leukocyte migration inhibition. A one-time vaccine administration to pregnant cows did not significantly affect the morphological parameters of the blood, instead, a two-time vaccine administration was accompanied by a significant increase in the number of red blood cells ( $p < 0.01$ ). The blood leukocyte index of pregnant cows after a one-time vaccine administration increases by 22.9 % ( $p < 0.05$ ), and in animals that were administered the vaccine twice – only by 8 %. There was a significant decrease in glucose and creatinine content in the blood of pregnant cows by 13–28 % ( $p < 0.05$ –

0.01) regardless of the level of the body sensitization and an increase in transaminase activity by 1.3–1.5 times ( $p < 0.05$ –0.001).

For the first time, samples of transfer factor specific for *Salmonella enterica* serovar Dublin, which induces active cellular immunity in allogeneic and xenogeneic recipients, were obtained from the colostrum of sensitized cows. A rational scheme for sensitization of donor cows for transfer factor specific for the causative agent of salmonellosis has been developed, the essence of which is that a two-time vaccine administration is necessary to obtain a highly active fraction of leukocyte dialysate.

Obtaining a homogeneous cell suspension plays an important role during the production of active transfer factor from sensitized lymphocytes. To count the number of such cells, a method using plastic flat-bottomed tablets is proposed.

Using an improved technique, a transfer factor specific for the causative agent of salmonellosis in calves was obtained, which is able to transfer the state of sensitization to recipients *in vitro* and *in vivo*, and which does not have species specificity. Samples of transfer factor specific for the causative agent of salmonellosis, obtained from colostrum of cows with two-time vaccine administration, have higher biological activity.

Amino acid analysis was performed and the dialysis extract of lymphocytes obtained from colostrum cells was fractionated, the fraction with the highest immunogenic activity was determined.

The delayed-type hypersensitivity reaction to the causative agent of salmonellosis in calves was transferred from sensitized cows to xenogenic animals (white mice) by transfer factor derived from colostrum of cows, which was confirmed in positive reactions of leukocyte migration and skin test. When modeling the process of development of delayed-type hypersensitivity in sensitized recipients (white mice) in response to the introduction of the allergen, the thickness of the skin fold increases 1.64 times ( $p < 0.001$ ) during the day and becomes significantly higher ( $p < 0.001$ ) compared to these in mice of the control group. The results of the leukocyte migration inhibition reaction indicate inhibition of leukocyte migration during contact with salmonella antigen.

The positive effect of the transfer factor samples obtained from colostrum lymphocytes on postnatal adaptation in calves was proved: the content of lymphocytes increased ( $F=4.41>FU=3.40$ ;  $p=0.023$ ), T-lymphocytes ( $F=80.8>FU=2.8$ ;  $p<0.001$ ), T-active lymphocytes ( $F=85.7>FU=2.8$ ;  $p<0.001$ ), B-lymphocytes ( $F=82.22>FU=2.8$ ;  $p<0.001$ ), 0-lymphocytes ( $F=27.66>FU=2.8$ ;  $p=0.023$ ), T-helpers ( $F=85.21>FU=2.8$ ;  $p<0.001$ ) and T-suppressors ( $F=23.4>FU=2.8$ ;  $p<0.001$ ). The relative immaturity of the cellular immune defense in newborn calves was confirmed by a low phagocytic index (3.5–3.6 CU). However, by day 21 of the calves' life, the rate of phagocytic activity and phagocytic index of neutrophils increases by an average of one third ( $p<0.001$ ). It was found that the transfer factor administered to the body of calves during the first days of life does not limit the number of leukocytes in their blood ( $F=0.63<FU=3.41$ ;  $p=0.542$ ); the effect of transfer factor on B-lymphocyte and 0-lymphocyte counts was also insignificant. Instead, the application of transfer factor had a significant effect on the number of lymphocytes in the blood of calves ( $F=4.41>FU=3.40$ ;  $p=0.023$ ), in particular, on the content of T-lymphocytes ( $F=6.86>FU=3.19$ ;  $p=0.002$ ) and T-active lymphocytes ( $F=4.3>FU=3.19$ ;  $p=0.019$ ).

The application of transfer factor contributes to the shift of the balance between the cellular and humoral parts of the immune defense towards the activation of its cellular immunity, which indicates the stimulating effect of the transfer factor on the immune response of the cell type. Thus, an increase in the number of lymphocytes in the blood ( $p<0.05$ – $0.001$ ), in particular, the fraction of T-cells (by 35–42 %;  $p<0.001$ ), T-active cells (by 47–58 %;  $p<0.001$ ) and B-lymphocytes (by 21–27 %;  $p<0.05$ ) was found.

For the first time, the stimulating effect of transfer factor on phagocytic activity and phagocytic index of blood lymphocytes in calves was established. ( $F=3.5$ – $5.1>FU=3.2$ ;  $p=0.05$ – $0.01$ ) was established, as a result of which these indicators are higher by 13–25 % ( $p<0.001$ ) of those in animals of the control group. The application in calves of transfer factor derived from colostrum lymphocytes in sensitized cows increases the blood leukocyte index from birth to the seventh day of life by 16–19 % ( $p<0.05$ – $0.001$ ) from that in control animals.



The application of transfer factor has a significant effect on the content of T-helpers in the blood of calves ( $F=8.79>F_{U}=3.19$ ;  $p<0.001$ ). The effect of transfer factor derived from colostrum lymphocytes on the number of T-helpers and T-suppressors in 7-day-old calves was  $\eta^2=0.43-0.83$  ( $p<0.05-0.001$ ). Under this effect, the number of these blood cells was higher by 29–43 % ( $p<0.05-0.001$ ) than in animals of the control group.

For the first time, the interfactor interaction between the level of transfer factor in the body of newborn calves and postnatal adaptation of the immune system was established ( $F=3.76-4.80>F_{U}=2.29-3.40$ ;  $p<0.05-0.01$ ), indicating the effect of transfer factor on the intensity of postnatal adaptation of the immune system in calves.

The application of transfer factor together with antidehydration and antimicrobial means helps to increase the resistance in calves, in particular, the frequency of clinical manifestations of diseases of the digestive tract was reduced to 40 %. The application of transfer factor reduces the duration and facilitates the course of digestive tract diseases in calves. In particular, on the second day of treatment 50 % of sick animals recovered, and another 20 % – on the third day of treatment. Calf mortality was only 2 %, and the preservation index reached 98 %.

The scientific novelty of the obtained data is confirmed by the patent of Ukraine on the utility model “Method for prevention of diseases of the gastrointestinal tract in newborn calves”.

The results of the dissertation research can be implemented as elements of biotechnology during industrial production of drugs based on transfer factor specific for salmonellosis and other infectious diseases that is derived from colostrum lymphocytes.

**Keywords:** colostrum, transfer factor, calves, immunity, resistance.

# СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

## Статті у наукових фахових виданнях України,

### у тому числі включених до міжнародних наукометричних баз даних

1. **Постой В. В.**, Козловська Г. В. Деякі показники фізико-хімічного і клітинного складу молока і молозива корів. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького. 2009. Т. 11. № 2–4 (41). С. 65–71. *(Здобувачем виконано експериментальні дослідження, статистичну обробку даних та формулювання висновків).*

2. **Постой В. В.** Трансфер фактор: структура та використання (огляд). Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2010. Вип. 151. Ч. 2. С. 153–158.

3. **Постой В. В.**, Скибіцький В. Г. Вплив молозивного трансфер-фактора на вміст лейкоцитів та лейкограму крові телят. Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2017. № 2 (66). URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/viewFile/8489/7939> *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріали для публікації).*

4. Скибіцький В. Г., Ташута О. С., Козловська Г. В., **Постой В. В.**, Ібатулліна Ф. Ж. Перспективний засіб коригування імунітету у тварин. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2017. Вип. 265. С. 189–195. *(Здобувачем проведено аналіз наукових джерел з проблеми досліджень).*

5. Скибіцький В. Г., **Постой В. В.**, Козловська Г. В., Ібатулліна Ф. Ж., Даниленко С. Г. Молозивний трансфер-фактор в комплексній терапії за шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2018. Вип. 293.

С. 145–151. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріали для публікації).*

6. Постой В. В. Неспецифічні та антигенспецифічні властивості трансфер-фактора, отриманого з молозива сенсibilізованих до збудника сальмонельозу корів. Наукові горизонти. 2019. № 8 (81). С. 53–58.

7. Skybitskyi V. G., **Postoi V. V.**, Kozlovska H. V., Ibatullina F. Zh., Postoi R. V. Blood biochemical parameters in transfer factor donor cows depending on sensitization scheme. Ukrainian journal of veterinary sciences. 2020. Vol. 11. Issue 4. P. 71–78. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріали для публікації).*

### **Патент України на корисну модель**

8. Скибіцький В. Г., Столюк В. В., Ібатулліна Ф. Ж., Козловська Г. В., **Постой В. В.** Спосіб профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту у новонароджених телят: патент на корисну модель 60203 Україна, № u201014664; заявлено 06.12.2010; опубліковано 10.06.2011; Бюл. № 11. *(Здобувачем взято участь у дослідженнях, розробленні принципу корисної моделі і підготовці матеріалів до патентування).*

### **Тези наукових доповідей**

9. Постой В. В. Дослідження клітин у молозиві та молоці корів. Конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 10–12 березня 2008 року: тези доповідей. К., 2008. С. 128.

10. Постой В. В. Отримання зразків трансфер фактору, специфічного щодо збудника сальмонельозу, з клітин молозива корів. Конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції

тваринництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 12–13 березня 2009 року: тези доповідей. К., 2009. С. 135.

11. **Постой В. В.**, Козловська Г. В. Ефективність комплексу пробіотика з трансфер-фактором при шлунково-кишкових захворюваннях у телят. XI Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників, і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 14–15 березня 2012 року: тези доповіді. К., 2012. С. 39–40. *(Здобувачем проведено дослідження, підготовлено матеріали для публікації).*

12. **Постой В. В.**, Скибіцький В. Г. Вплив рівня сенсibiliзації організму корів вакциною проти сальмонельозу телят на морфологічні показники крові. Актуальні проблеми ветеринарної медицини: XVI Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів, м. Київ, 19–20 квітня 2017 року: тези доповіді. К., 2017. С. 106. *(Здобувачем проведено дослідження, підготовлено матеріали для публікації).*

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	16
ВСТУП.....	17
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	22
1.1. Хімічний склад і фізичні властивості молозива .....	22
1.2. Колостральні складові постнатального імунітету .....	24
1.3. Клітинний склад молозива .....	29
1.4. Міжклітинні взаємодії імунних клітин .....	32
1.4.1. Адгезивні молекули .....	34
1.4.2. Цитокіни.....	36
1.5. Трансфер-фактор: природа, основні властивості та механізм дії .....	38
1.5.1. Природа трансфер-фактора.....	38
1.5.2. Сучасні методи отримання трансфер-фактора .....	43
1.5.3. Використання трансфер-фактора у ветеринарній та гуманній медицині .....	44
1.6. Заключення з огляду літератури.....	47
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	49
2.1. Дослідження молока і молозива .....	54
2.2. Методика виділення трансфер-фактора.....	56
2.3. Методика досліджень імунобіологічних властивостей трансфер-фактора .....	57
2.4. Біохімічні та морфологічні методи досліджень крові.....	59
2.5. Методика досліджень показників неспецифічного та специфічного імунного захисту тварин .....	62
2.6. Статистичні дослідження та біоетична оцінка .....	64
2.7. Узагальнення до матеріалів і методів досліджень.....	65

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	66
3.1. Вплив рівня сенсibiliзації організму корів протисальмонельозною вакциною на показники крові та якість молока і молозива.....	66
3.1.1. Морфологічні показники крові корів за різної схеми застосування протисальмонельозної комерційної вакцини.....	66
3.1.2. Біохімічні показники крові корів за різної схеми сенсibiliзації.....	69
3.2 Розробка методу виділення трансфер-фактора з лімфоцитів молозива корів .....	72
3.2.1 Розробка та апробація методу виділення і підрахунку клітин молозива та якісні показники молозива і молока.....	73
3.2.2. Вибір оптимального методу виділення суспензії лімфоцитів .....	76
3.2.3. Аналіз активності діалізного екстракту лімфоцитів та його амінокислотний склад.....	80
3.2.4. Міжвидова активність отриманого трансфер-фактора.....	83
3.3. Вплив застосування трансфер-фактора на резистентність телят.....	85
3.3.1. Вплив трансфер-фактора на вміст лейкоцитів у крові телят та лейкограму крові телят.....	85
3.3.2. Вплив трансфер-фактора на лейкоцитарний та ядерний індекси крові телят.....	91
3.3.3. Динаміка кількості лімфоцитів та співвідношення різних класів лімфоцитів у крові телят за введення трансфер-фактора .....	93
3.3.4. Динаміка вмісту Т-лімфоцитів та Т-активних лімфоцитів у крові телят за введення трансфер-фактора.....	98
3.3.5. Динаміка вмісту В-лімфоцитів у крові телят за введення трансфер-фактора.....	104
3.3.6. Вплив введення трансфер-фактора на відношення Т/В-лімфоцитів у крові телят.....	106

3.3.7. Динаміка вмісту 0-лімфоцитів у крові телят за введення трансфер-фактора.....	107
3.3.8. Аналіз вмісту різних класів лімфоцитів у крові телят в період постнатальної адаптації за введення трансфер-фактора.....	109
3.3.9. Вплив трансфер-фактора на субпопуляційний склад Т-лімфоцитів у крові телят.....	112
3.3.10. Вплив трансфер-фактора на фагоцитарну активність та фагоцитарний індекс крові телят.....	118
3.4. Випробування ефективності застосування трансфер-фактора з профілактичною та лікувальною метою за шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят.....	123
РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	127
ВИСНОВКИ.....	136
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ .....	139
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	140
ДОДАТКИ.....	157

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

АлАТ – аланінамінотрансфераза;  
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;  
ГСТ – гіперчутливість сповільненого типу;  
ДЕЛ – діалізний екстракт лімфоцитів;  
ІІ – інтерлейкіни;  
ІМЛ – індекс міграції лімфоцитів;  
ІРІ – імунорегуляторний індекс;  
ЛІ – лейкоцитарний індекс;  
РУК – розеткоутворюючі клітин;  
ТФ – трансфер-фактор;  
Тс – Т-супресори;  
Тх – Т-хелпери;  
ФА – фагоцитарна активність;  
ФІ – фагоцитарний індекс;  
ЦК – цитокіни;  
ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів;  
ЯІ – ядерний індекс;  
df – кількість рівнів фактора (-1);  
F – критерій оцінки фактора впливу на залежну змінну;  
F критичне – критичне значення фактора впливу;  
n – кількість тварин у групі;  
M – середнє арифметичне;  
m – похибка середнього арифметичного;  
MS – середнє квадратичне;  
p – достовірність;  
r – коефіцієнт кореляції;  
 $R^2$  – коефіцієнт детермінації;  
SS – сума квадратів;  
 $\eta^2$  – показник сили впливу.



## ВСТУП

Імунотропні препарати є надзвичайно важливими елементами у налагодженні ефективної профілактики й терапії за патології у людей і тварин. Особливо важлива їх роль у випадках, коли захворювання виникають на тлі імунодефіцитів, які досить поширені.

Серед багатьох імуномодуляторів сьогодні пропонуються препарати на основі трансфер-фактора. Трансфер-фактор (Transfer Factor) – це антиген-специфічна речовина, що синтезується сенсibiliзованими лімфоцитами та здатна переносити клітинно-опосередковану імунну реактивність реципієнтам. Нині доведено ефективність препаратів на основі індукторного трансфер-фактора (синтезується Т-лімфоцитами-хелперами) за низки захворювань різної природи у людини і тварин, зокрема, під час лікування та профілактики гострої лімфоцитарної лейкемії людини [29], трансмісивного гастроентериту свиней [119], герпесу у людини [21], туберкульозу [88], стафілококової інфекції [89], сальмонельозу [81], вірусного гепатиту [98], інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби [154], вірусних хвороб птиці [138] та ін.

В Україні дуже мало наукових робіт, присвячених вивченню трансфер-фактора. У відомих із цього приводу публікаціях науковців Київського національного університету ім. Т. Шевченка [133, 155] та науковців Національного університету біоресурсів і природокористування України [158, 182, 183, 188, 197] наголошується на важливості більш інтенсивного його вивчення.

Дефіцит імунотропних препаратів для потреб ветеринарної медицини зумовив необхідність подальшого дослідження трансфер-фактора, зокрема, розроблення на його основі препаратів для терапії новонароджених тварин за доволі розповсюджених захворювань травного каналу та їхньої профілактики. Останнє і слугувало основним аргументом у виборі напряму проведених досліджень, важливим аспектом яких є потреба забезпечити альтернативу

широкому застосуванню антибіотиків, позбавитися відомих негативних наслідків профілактики й терапії антибіотиками.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Роботу виконано, як розділ наукових досліджень Національного університету біоресурсів і природокористування України за держбюджетною темою «Розробка теоретичних основ конструювання вискоєфективних біологічних препаратів» (номер державної реєстрації 0108U001862, 2008–2010 рр.).

**Мета та завдання досліджень.** Мета дисертаційного дослідження – науково-експериментальне обґрунтування методики отримання трансфер-фактора клітинного імунітету з лімфоцитів молозива корів та дослідження адаптогенної активності його зразків.

Відповідно до мети роботи було визначено такі наукові завдання:

- розробити методику сенсibiliзації тільних корів-донорів специфічного щодо *Salmonella enterica serovar Dublin* (*Salmonella Dublin*) трансфер-фактора;
- удосконалити методику отримання трансфер-фактора з лімфоцитів молозива корів;
- здійснити перенесення гіперчутливості сповільненого типу до *Salmonella Dublin* від тварин-донорів трансфер-фактора ксеногенним реципієнтам (білі миші);
- визначити амінокислотний склад діалізного екстракту лімфоцитів, виділеного з молозива корів-донорів;
- охарактеризувати адаптогенну дію отриманих зразків трансфер-фактора в організмі телят раннього постнатального періоду;
- дослідити превентивну та протективну ефективність застосування зразків виділеного з лімфоцитів молозива трансфер-фактора в умовах господарства, неблагополучного щодо захворювань травного каналу в новонароджених телят.

**Об'єкт дослідження** – трансфер-фактор, отриманий із лімфоцитів молозива корів.

*Предмет дослідження* – методика отримання трансфер-фактора з лімфоцитів молозива корів та його адаптогенні властивості.

**Методи дослідження.** Поставлені в роботі наукові завдання вирішувалися експериментально з використанням імунологічних (реакція гіперчутливості сповільненого типу, реакція інгібіції міграції лейкоцитів, реакція визначення фагоцитарної активності та фагоцитарного індексу), біохімічних (вміст гемоглобіну, загального білка, глюкози, креатиніну, сечовини, Калію, Кальцію, Фосфору, Натрію), гематологічних (визначення популяційного та субпопуляційного складу лімфоцитів), клінічних (клінічний огляд тварин) та статистичних методів досліджень.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше доведено адаптогенну дію трансфер-фактора клітинного імунітету, отриманого з лімфоцитів молозива корів, в організмі телят раннього постнатального періоду та встановлено превентивні і протективні його властивості за шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят; удосконалено методику виділення трансфер-фактора з лімфоцитів молозива корів-донорів, визначено найбільш активну його фракцію та досліджено вплив трансфер-фактора на гематологічні й імунологічні показники новонароджених телят.

Наукову новизну отриманих даних підтверджено патентом України на корисну модель «Спосіб профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту у новонароджених телят».

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дисертаційних досліджень обґрунтовують ефективність превентивного та протективного застосування трансфер-фактора отриманого з лімфоцитів молозива корів у якості адаптогена за захворювань травного каналу в новонароджених телят; можуть бути впроваджені, як елементи біотехнології препаратів на основі трансфер-фактора.

Результати досліджень впроваджено в навчальний процес на кафедрах: епізоотології, мікробіології і вірусології Національного університету біоресурсів і природокористування України; фізіології, біохімії та мікробіології

Одеського державного аграрного університету; технології виробництва продукції тваринництва Полтавського державного аграрного університету; ветсанекспертизи, мікробіології, зоогігієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету; нормальної та патологічної фізіології, мікробіології, вірусології та імунології Харківської державної зооветеринарної академії та використовуються науковцями лабораторії екологічної фізіології та якості продукції Інституту біології тварин НААН.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувач особисто здійснила пошук і аналіз літератури за темою дисертації, виконала наукові дослідження та статистичну обробку отриманих показників. Спільно із науковим керівником здійснила аналіз одержаних результатів та сформулювала висновки. Деякі дослідження реалізовано у творчій співпраці з кандидатом біологічних наук, старшим науковим співробітником Л. М. Роцько (фракціонування діалізного екстракту лімфоцитів) та кандидатом ветеринарних наук, доцентом Г. В. Козловською (розроблення методики визначення концентрації клітин у молозиві).

**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертаційних досліджень було апробовано на: конференції професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва (м. Київ, 2009 р.); II Міжнародній науково-практичній конференції «Наукові здобутки молоді у вирішенні актуальних проблем виробництва та переробки сировини, стандартизації і безпеки життя та продовольства» (м. Київ, 2012 р.); XVI Міжнародній науково-практичній конференції професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів «Актуальні проблеми ветеринарної медицини» (м. Київ, 2017 р.).

**Публікації.** Основні положення дисертації опубліковано у 12 наукових працях, з яких 7 статей у наукових фахових виданнях України, у тому числі включених до міжнародних наукометричних баз даних, патент України на корисну модель, 4 тези наукових доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертацію викладено на 166 сторінках, ілюстровано 27 таблицями та 29 рисунками. Робота складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів експериментальних досліджень, їхнього аналізу та узагальнення, висновків і пропозицій виробництву, списку використаних літературних джерел і додатків. Список літератури налічує 198 найменування, з яких 125 латиницею.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Хімічний склад і фізичні властивості молозива

У перші 6–7 діб після отелення молочна залоза корови виділяє секрет–молозиво, яке за своїм хімічним складом, фізичним і біологічними властивостями відмінне від молока. Молозиво містить велику кількість білків, так у молозиві першого надою знаходиться до 20 % загального протеїну, в тому числі 12,5–13 % глобулінів, однак уже через 24 години їх вміст знижується до 0,55 % [129].

У молозиві першого надою вищий вміст казеїну, сечовини, креатину та креатиніну. Кількість білкових речовин у молозиві різко падає з кожним наступним надоєм і приблизно на 4–6 добу після отелення доходить до показників молока. У зв'язку з великою кількістю білкових речовин в молозиві його в'язкість коливається від 4,5 до 7,3 [144].

Кількість жиру в молозиві лише в першому надої підвищена, але якісні показники молозивного жиру різняться. Так, у молозивному жирі менше летких жирних кислот та більше високомолекулярних і ненасичених жирних кислот. Величина жирових кульок невелика, їхній діаметр складає 0,1–2,2 мк. У жирі молозива містяться фосфатиди і стериди. Фосфатид лецитину в жирі молозива більше до 16 разів, ніж у молоці. У молозиві багато холестеролу, зокрема в першому надої після отелення – до 13,97 %. Молозивний жир багатий вітамінами А, Д, Е. Масло, отримане з жиру молозива, володіє високими лікувальними і профілактичними властивостями [165]. Кількість лактози (молочного цукру) в молозиві менше, ніж у молоці. Так, в першому надої вміст лактози коливається від 2 до 4 %.

Мінеральних речовин у молозиві першого надою майже в два рази більше, ніж у молоці, причому основну частину золи молозива складають фосфати і лужноземельні метали. Фосфорної кислоти в ній майже вдвічі більше, ніж у золі молока, а кальцію – у півтора рази. У молозиві містяться і деякі мікроелементи.

У співвідношеннях лактози і мінеральних речовин в молозиві проявляється певна закономірність: у міру переходу молозива в молоко зменшується кількість мінеральних речовин і пропорційно збільшується вміст лактози [143].

Кількісні зміни окремих компонентів молозива і деяких фізико-хімічних його властивостей можуть варіювати залежно від породи, віку, корму, стану здоров'я тварини [136].

Сухих речовин у молозиві майже в три рази більше, ніж у молоці (32,5 % проти 11–13 %); щільність його – 70 ° молочного ареометра. Градус титрованої кислотності (Т) коливається від 25 до 60. З високою кислотністю молозива пов'язують його імунобіологічні властивості. Встановлено, що чим вище °Т молозива корови, тим вище його імунобіологічні властивості [135].

Безприв'язне утримання сухостійних корів влітку на вигульно-кормовому майданчику з відокремленими зонами відпочинку і годівлі порівняно зі стійловим утриманням тварин на прив'язі у приміщенні позитивно вплинуло на якість молозива і молока, згодовування якого сприяло кращому росту і збереженню телят, а також на підвищення рівня молочної продуктивності корів у перші місяці лактації [161].

Останні дослідження показали, що молозиво містить велику кількість гормонів росту (інсулін-подібний чинник росту I і II, епідермальний і трансформуючий чинники росту та чинник росту нервів), а також інсулін, кортизол і тироксин. Вони можуть позитивно впливати на розвиток травної системи [27].

Основні вітаміни та мінеральні речовини молозива є незамінними регуляторами усіх життєвих процесів, які розпочинаються від окремих біохімічних реакцій та закінчуються функціонуванням цілих органів та систем. Травні ферменти молозива допомагають справлятися із травленням незрілій травній системі новонародженого, що вкрай важливо, через те, що від ефективності засвоєння поживних речовин напряду залежать ріст та розвиток народженого організму. Наявні у молозиві пребіотики забезпечують ріст чи нормалізацію кишкової мікрофлори.

Молозиво є унікальним продуктом, що забезпечує створення пасивного імунітету за рахунок вмісту імуноглобулінів, має бактерицидну дію завдяки вмісту лізоциму, що розчиняє оболонки мікроорганізмів, пригнічує розвиток патогенних мікроорганізмів за рахунок високої кислотності та має велику поживну цінність. Раннє випоювання молозива сприяє зниженню захворюваності й падежу телят, підвищенню середньодобового приросту їхньої живої маси.

## **1.2. Колостральні складові постнатального імунітету**

Молозиво – це суміш молока та компонентів сироватки крові (імуноглобуліни та інші білки), яка накопичується в молочній залозі у передродовий період та здоюється після отелення [24]. Поряд з вуглеводами, ліпідами, білками, вітамінами, мінеральними солями, ферментами та гормонами [180], воно містить комплекс захисних факторів, до числа яких належать лактоферин, лактопероксидаза, лізоцими, лейкоцити (фагоцити), імуноглобуліни, а також каталітично активні антитіла [48].

Бурхливий розвиток імунології спричинило за собою повторний сплеск інтересу до молозива, вже як чинника передачі імунітету від матері до потомства. Рівень розвитку науки дозволив виявити і досліджувати різні гуморальні фактори молозива, які беруть участь у передачі імунітету. У першу чергу увазі піддалися імуноглобуліни і фактори неспецифічного імунітету [140]. Було виявлено, що під час попадання антигену в тканини молочної залози відбувається вироблення імуноглобулінів безпосередньо в молочній залозі [146]. На цьому явищі заснована методика пренатальної імунізації самок у ділянку молочної залози [186]. Водночас, молочна залоза активно реагує на введення антигену: у молозиві вакцинованих овець, взятому до першого годування ягнят, збільшувався вміст імуноглобулінів G і M (IgG – 93,75 і IgM – 9,97 мг/мл) у порівнянні з контрольними (67,7 і 7,25 мг/мл), вміст В-лімфоцитів у крові – 39,76 проти 31,58 в контролі [186]. Вакцинація вимені суягних маток сприяла підвищенню гуморальних і клітинних факторів молозива. У сироватці крові



ягнят, народжених від вакцинованих маток, до першого годування, вміст IgG (1,71) трохи вище в порівнянні з контрольними (0,66 мг/мл) [150]. Кількість IgM в сироватці крові обох груп ягнят була приблизно однаковою. Вакцинація надавала стимулюючий вплив і на синтез імуноглобуліну G у плоду. Через добу після прийому молозива у сироватці крові ягнят різко збільшувався вміст імуноглобулінів, причому в сироватці ягнят від вакцинованих овець рівень IgG і IgM достовірно вище (89,07 і 7,32) в порівнянні з контролем (67,9 і 6,98 мг/мл). Таким чином, збільшення популяції окремих лімфоцитів, вмісту імуноглобулінів в молозиві і у крові ягнят у відповідь на локальну імунізацію молочної залози має не лише профілактичне значення для маток, але також сприяє підвищенню резистентності новонароджених ягнят.

Другим способом є потрапляння вироблених імуноглобулінів з кров'яного русла в молочну залозу. Імуноглобуліни в молочній залозі представлені різними класами. Концентрація різних типів імуноглобулінів в молоці значно нижче, ніж в молозиві [146]. Основна їхня функція – опсонізація мікробів, що покращує їхній фагоцитоз лейкоцитами. Імуноглобуліни діють одні або в комплексі з комплементом. IgG переноситься у вим'я і є основним у нормальному молоці під час лактації. IgA і IgM синтезуються у тканинах плазмовими клітинами і потім проходять через епітелій в молоко. IgA не опсонізують бактерії, але перешкоджають їх прилипанню до епітеліальних мембран [85].

**Імуноглобуліни.** Молочна залоза містить велику кількість плазматичних клітин, які продукують імуноглобуліни. Багато дослідників довели, що при введенні антигенів безпосередньо в молочну залозу можна отримати високий титр даних антитіл в молозиві [131]. Накопичення їх в молочній залозі й поява у молозиві спостерігається перед отеленням корови і вже на молозивній стадії лактаційного періоду їхня кількість велика, порівняно з їхнім вмістом у молоці. Імуноглобуліни та власне каталітичні антитіла накопичуються в молочній залозі двома шляхами [40]. Перший, це занесення до молочної залози з кров'ю, причому титр імуноглобулінів у молозиві залежить від їхньої концентрації у крові. Другий – імуноглобуліни синтезуються безпосередньо в молочній залозі [11].

У США в 1993 році National Animal Health Monitoring System (NAHMS) провела дослідження активності колострального імунітету телят. Для аналізу взяли зразки крові 2177 телят (24–48 годин після народження) із 598 молочних ферм для визначення в сироватці крові рівня імуноглобуліну G, що представляє 90 % усіх імуноглобулінів, що засвоюються із молозивом [63]. З усіх телят 60 % засвоїли достатню кількість імуноглобулінів і мали вміст IgG у сироватці крові – 10 мг/мл та більше [43, 91]. Однак, у 40 % телят встановлено низький рівень пасивного імунітету. Під час дослідження було встановлено зв'язок між рівнем смертності телят та рівнем IgG у сироватці крові і підтверджено значення вчасного згодовування якісного молозива [16].

Порода корів впливає на якість молозива. Вміст імуноглобулінів у молозиві джерсейських корів становить 9,0 %, айширських – 8,1 %, коричневих швейцарських – 6,6 %, гернзейських – 6,3 % та голштинських – 5,6 % [51].

Окрім породи, на якість молозива впливає кількість отелів. Концентрація імуноглобулінів у молозиві первісток нижча, ніж у старших корів [93]. Середня концентрація імуноглобулінів у молозиві під час першої лактації становить 5,91 %, другої – 6,26 %, третьої – 8,15 %, а четвертої і наступних – 7,49 % [108]. Оскільки кількість корів-первісток на більшості молочних ферм становить 25–30 %, то велика кількість телят, яких годують молозивом від матері, не отримують належного захисту від хвороб [123].

Телята починають продукувати власні імуноглобуліни приблизно на десятий день від народження і досягають нормального рівня протистояння хворобам у віці 8 тижнів. Отже, для того щоб забезпечити хороший пасивний імунітет телята після народження мають отримати достатню кількість якісного молозива першого удою [35]. Ефективність абсорбції IgG варіюється від 20 % до 48 % залежно від вмісту IgG у молозиві та фізіологічних особливостей теляти. Середній показник ефективності абсорбції для теляти становить 25 % [103].

Щоб забезпечити успішну передачу пасивного імунітету (концентрація IgG в сироватці крові 10 мг/мл), новонародженим тваринам потрібно

згодовувати мінімум 2 літри високоякісного молозива [42]. Нещодавні дослідження показали, що згодовувати молозиво у більшій кількості корисніше.

У телят, які одразу після народження отримали молозиво, стінки кишечника втрачали здатність до абсорбції IgG приблизно через 21 годину, IgM та IgA – через 23 години [83]. Однак, якщо першу годівлю молозивом проводили через 24 години після народження, період проникності стінок кишечника становив 33, 31 та 32 години відповідно для IgG, IgM і IgA [24]. Отже, тривалість абсорбції скорочується за зволікання з першою годівлею. Натомість більше половини (60 %) телят, які вперше отримали молозиво через 24 години після народження, неспроможні абсорбувати Ig [16].

Функції імуноглобулінів не обмежуються лише забезпеченням пасивного імунітету. Доведено, що імуноглобуліни, які захищають внутрішні стінки кишечника, виконують локалізуючу функцію, особливо проти *E. Coli* [34]. Рівень захворюваності і смертності серед телят, що зазнали дії *E. coli*, був значно нижчим, якщо тварини споживали молозиво із вмістом Ig проти *E. coli*, навіть тоді, коли стінки кишечника закриваються для абсорбції [76].

У складі молозива об'єднані у самих оптимальних пропорціях декілька груп біологічно активних речовин, дуже важливих для правильного розвитку та росту телят.

**Інтерферони** – головний елемент противірусного захисту клітин організму. Інтерферони мають понад 300 біологічних ефектів, ось деякі з них: радіопротектний ефект; протипухлинний ефект; антитоксична дія; стимулюють або пригнічують синтез атитіл; антипроліферативна активність; посилення фагоцитозу і посилення експресії комплексу гістосумісності; стимулюють продукцію факторів та молекул адгезії; пригнічення розмноження хламідій, рикетсій, найпростіших, бактерій тощо [86].

**Трансфер-фактори** – унікальні молекули «імуної пам'яті», які «навчають» організм боротися з тими інфекціями, з якими йому іще тільки прийдеться зустрітися [111].

**Фактори росту** – єдині у своєму роді природні речовини, які у організмі теляти регулюють ріст та правильний розвиток усіх органів і систем, а у організмі дорослих тварин проявляють свої омолоджуючі властивості, стимулюючи оновлення клітин. Відомо десятки факторів росту під назвами TGF-бета (трансформуючий фактор росту-бета), BMP (білок морфогенезу кісток), нейротрофіни (NGF, BDNF і NT3), фактор росту фібробластів (FGF) тощо [77].

**Ендорфіни** – унікальні фізіологічні речовини, які захищають організм ссавців від самих різних стресів, підвищують стійкість до фізичного навантаження, регулюють настрій (фізіологи образно називають їх «гормонами ofcnz») [111].

**Амінокислоти** молозива є матеріалом для побудови білків тіла телят. Молозиво багате тауріном, що необхідний для розвитку головного мозку, серця та м'язів [135].

**Лактроферин** є найбільш поліфункціональним білком коров'ячого молозива, який під час потрапляння в організм хелатує іони заліза, тим самим створює залізодефіцитне середовище і позбавляє бактеріальну мікрофлору необхідного для її росту і життєдіяльності мікроелементу. Разом з тим, в основі протиінфекційної активності лактоферину лежать й інші механізми [142, 180]. У молозиві міститься достатньо високий рівень Феруму, вільні форми якого є невід'ємною частиною розмноження мікроорганізмів. За даними ряду авторів концентрація лактоферину в молоці напряму корелює із концентрацією соматичних клітин і може бути показником запалення молочної залози [92].

Білок лактоферин належить до мінорних компонентів молока, тобто концентрація яких становить менше 0,01 %. За даними Chen P. W. та ін [23] концентрація лактоферину корелює із сортністю молока, наприклад за зниженої якості молока кількість лактоферину підвищується.

**Лактопероксидаза** молозива володіє бактерицидними властивостями. Це дуже м'який протимікробний агент, який одночасно стимулює збільшення кількості корисних бактерій в організмі та протидіє зростанню патогенних. Вона каталізує окиснення тіоціанатів перекидом гідрогену з утворенням проміжних

продуктів з бактерицидною дією по відношенню до багатьох шкідливих мікроорганізмів, зокрема стрептококів та ентерококів [159].

**Лізоцим** молозива відіграє роль антибактеріального бар'єру в організмі новонародженого. У молоці корів знаходяться чотири групи лізоциму: лізоцим М (молока), лізоцим В (вим'я), лізоцим О (основний), лізоцим Т (термостабільний) [159]. Вони виробляються молочною залозою або надходять у молоко з крові. Найбільшою бактерицидною властивістю вирізняється лізоцим М, який згубно діє на грампозитивні мікроорганізми, патогенні стафілококи, маститні стрептококи, сальмонели, кишкові палички, збудників сибірки тощо.

Ще одним важливим компонентом молозива є **абзими**. Абзими або каталітичні антитіла – моноклональні антитіла, що володіють каталітичною активністю [212].

Білки-абзими коров'ячого молока володіють такими властивостями:

- мають імунопротекторну дію;
- мають імуномодулювальну дію при можливих аутоімунних захворюваннях і алергічних станах, які виникають у новонароджених;
- підвищують стійкість організму до простудних та інфекційних захворювань;
- володіють адаптогенною дією [40]. При послабленій імунній системі організм немовляти стає чутливим для проникнення різних хвороботворних бактерій та грибів.

Усі ці численні компоненти молозива захищають організм новонародженого від несприятливого впливу різноманітних мікроорганізмів – бактерій, вірусів та грибкових інфекцій [194].

### 1.3. Клітинний склад молозива

Соматичні клітини – це клітини циліндричного, плоского і кубічного епітелію молочної залози, лейкоцити, еритроцити. У молоці навіть від здорової корови завжди містяться соматичні клітини з секреторної частини вимені. Соматичні клітини відіграють надзвичайно важливу роль у захисних механізмах

вимені. Важливою є не загальна кількість цих клітин, а тип, підтип клітин, а також взаємодія та функціонування клітин, які впливають на результат патологічного процесу – одужання, розвиток інфекції чи навіть загибель тварини. Крім того, механізм активації імунних клітин значно різнитиметься в залежності від виду мікроорганізму. Досі невідомо, чи необхідно, щоб соматичні клітини були присутні у секретах та тканинах залози, чи вони можуть ефективно та успішно мігрувати із циркуляторного русла у відповідь на виникнення внутрішньоцистернальної інфекції.

Клітинний склад молозива індивідуальний для кожного виду тварини і суттєво різний між досліджуваними видами [163].

Для молозива характерна наявність лейкоцитів і «молозивних» тілець. Поряд з лейкоцитами виявляються іноді клітини епітелію вивідних проток молочної залози. Молозивні (колостральні) тілця з крапельками жиру всередині мають вигляд виноградного грона. Вони знаходяться у великій кількості в перших надоях після отелення, потім число їх зменшується, і через 8–10 діб їх важко виявити в секреті молочної залози [135].

Фагоцити молозива здатні активно поглинати і розчиняти живі та мертві мікроорганізми. Вони завжди містяться у невеликій кількості в коров'ячому молоці, виконуючи захисну антибактеріальну функцію. Лейкоцити з коров'ячого молозива здатні закріплюватися на епітелії кишківника і перебувати там до трьох діб і проникати у кровоносну систему новонароджених, підтримуючи їх імунну систему і допомагаючи їй правильному формуванню [180].

Існують данні, що за 3 доби до отелення і в перший день після нього функціональна активність лейкоцитів знижується, після чого до третього тижня лактації зростає. Встановлені суттєві відхилення в числі життєздатних лейкоцитів молозива, виділених в один і той же день з різних чвертей вимені [139].

Лейкоцити молозива мають виняткове значення у створенні місцевого і загального імунітету у новонароджених тварин. За використання природної мітки клітин самок – статевого хроматину доведено можливість проникнення

іммунокомпетентних клітин молозива у кровотік новонародженого [139]. Після прийому молозива число лейкоцитів у крові новонароджених тварин збільшується переважно за рахунок лімфоцитів тимусного походження. Лімфатична система дитинчати проводить своєрідну підготовку лімфоїдної тканини до прийому імунної інформації.

У даний час розвивається теорія про передачу і формуванні імунітету за допомогою і під контролем імунної системи матері [179]. При цьому, передача клітин імунної системи (нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів, тканинних макрофагів) здійснюється за допомогою молозива: У даний час відомо, що безпосередньо перед лактацією має місце зниження рівня білка у крові, кількості деяких класів лейкоцитів. Можливо це обумовлено надходженням їх в молочну залозу і використанням на синтез білків молозива [126]. Число соматичних клітин в молозиві зростає в 10 разів. Зниження загального білка сироватки крові молозивного періоду пов'язано з надходженням його в молочну залозу. У сироватці молока в цей період загальний вміст білка збільшується в 2 рази, зростає кількість імуноглобулінів і протеозопептонної фракції білка. Підвищення кількості лейкоцитів крові з одночасною нейтропенією обумовлено надходженням їх в молочну залозу, в цитограмі секрету якої число нейтрофілів досягає 60 %.

Зростання моноцитів крові при молозивному періоді викликає збільшення макрофагів в секреті молочної залози. Збільшення кількості імуноглобулінів сироватки молока в молозивний період, під час запуску і при маститі корелює з появою в цитограмі молока плазматичних клітин, що вказує на синтез імуноглобулінів у молочній залозі [126]. Водночас у молозиві переважають нейтрофіли, лімфоцити, моноцитоподобні клітини [163, 164]. Однак, серед усіх фракцій, фракція лейкоцитів є домінуючою. Згідно з опублікованими даними [193], за дослідження різних фракцій молока (цистернальної, альвеолярної, залишкової) встановлено, що домінуючим видом клітин у всіх фракціях секрету 1 і 5 доби лактації є клітини білої крові, з яких близько половини припадає на лімфоцити. Певна частина цих клітин, мабуть,

представляє елементи імунної системи в молочній залозі. Однак автор вказує, що життєздатність цих клітин коротка. У той же час інша група авторів [147] опублікувала матеріали, що стосуються розвитку аутоімунних диспепсій у молодняка великої рогатої худоби і свиней. На їхню думку аутоімунна патологія органів травлення виникає при зриві імунологічної толерантності до власних антигенів, появі в результаті мутацій заборонених клонів лімфоцитів, вивільненні при альтернативних процесах внутрішньоклітинних антигенів, до яких немає толерантності, зміну власних антигенів під впливом фізичних факторів, токсинів, вірусів і інших агентів.

Методом мікроскопії мазка були вивчені основні клітинні елементи які містяться в молозиві і молоці кіз. Основні клітини – представники клітинного пулу молозива були віднесені до молозивних тілец (80 %) і лейкоцитів (20 %). У свою чергу молозивні тілця були представлені гігантськими багатоядерними і пінистими клітинами. Зразки молока містили до 70 % нейтрофільних лейкоцитів, 10 % моноцитів, 5 % лімфоцитів, 2 % еозинофіли. Також приблизно 10 % клітин були представлені пінистими клітинами. Упродовж молозивного періоду в секреті молочної залози підтримується високий вміст нейтрофілів. Видаляються з молочної залози відмерлі клітини епітелію альвеол і протоків, фагоцитуючі макрофаги, а присутні в молозиві еозинофіли зменшують прояви імунних реакцій, нейтралізують гістаміни і кініни. Базофіли поряд зі своєю здатністю до фагоцитозу можуть виділяти фізіологічно активні речовини – гепарин і гістамін, що володіють судинорозширювальною дією [75].

Отже, після завершення молозивного періоду кількість клітин у молоці знижується і вони знову з'являються лише на початку сухостійного періоду, коли інволюція залозистої паренхіми проходить із використанням рухомих і осілих макрофагів, а альвеолярну тканину витісняє жирова.

#### **1.4. Міжклітинні взаємодії імунних клітин**

У багатоклітинному організмі на клітинному і субклітинному рівнях інформація передається різними шляхами: контактено, дифузною, електрично, за



допомогою білкових молекул та ін. [26]. Водночас провідна роль належить лігандам (лат. *ligare* – зв'язувати), які вступають в зв'язок із специфічними рецепторами клітин за принципом компліментарності та регулюють метаболічну і проліферативну активність клітин [13]. Сигнальні молекули виробляються різними клітинами організму [109]. Наприклад, нейтрофіли і лімфоцити виробляють цитокіни (лімфокіни, монокіни, інтерлейкіни, інтерферони і колонієстимулюючі чинники), які регулюють ріст і диференціювання клітин і тканин [110].

Міжклітинні взаємодії, крім адгезивних міжклітинних і клітино-матриксних молекул, забезпечуються також різними медіаторами, які мають переважно короткодистанційну локальну дію [3]. До цих медіаторів відносять реактивно окислені метаболіти, метаболіти арахідонової кислоти (простогландини, ліпооксигеназні продукти і ін.), фактор активації тромбоцитів, цитокіни і фактори росту, протеолітичні ферменти, продукти місцевих аутокринних і паракринних систем і нещодавно відкритий фактор, що викликає релаксацію ендотелію – оксид азоту [46]. Всі ці медіатори об'єднані в групу аутокоїдів (від грец. ауто – сам і акос – ліки) – біологічні сигнальні молекули локальної дії. Серед багаточисленної групи аутокоїдів провідна роль у регуляції міжклітинних взаємодій відіграють цитокіни і фактори росту [4].

Взаємодія лімфоцитів з ендотеліальними клітинами стінки кровоносних судин, є першим етапом проникнення лімфоцитів у тканини. При чому, лімфоцити взаємодіють не тільки з активованим ендотелієм, але й із іншими тканинами [87]. Комплекс різних адгезивних молекул забезпечує ці міжклітинні взаємодії. Більшість робіт присвячено взаємодії Т-клітин з ендотелієм, хоча і при взаємодії В-клітин з ендотелієм діють ті ж механізми [20]. Серед численних молекул, що забезпечують адгезію лімфоцитів або до спеціалізованого ендотелію венул лімфоїдних органів, або до активованих ендотеліальних клітин, можна виділити: селектини, інтегрини та молекули імуноглобулінів [160].

### 1.4.1. Адгезивні молекули

Усі поверхневі адгезивні молекули забезпечують адгезію клітин до позаклітинного матриксу та сприяють розпізнаванню і адгезії різних клітин [3].

Однак міжклітинна та клітинно-субстратна взаємодія забезпечується різними родинami рецепторів. Досліджено і встановлено декілька сімейств адгезивних рецепторів: інтегрини (гетеродимерні білки), адгезивні рецептори (суперсімейства імуноглобулінів), селектини (лектінподібний домен що здатен комплементарно зв'язувати цукор), хомінгові рецептори (забезпечують потрапляння лімфоцитів у специфічну лімфоїдну тканину) [10].

В 1987 році Р. Хайнеса описав сімейство інтегральних мембранних рецепторів, які через цитоскелет зв'язують клітини або клітини з позаклітинним матриксом і дав їм термін – «інтегрини». Участь цих рецепторів у клітинно-матриксних і міжклітинних взаємодіях добре документовано в ряді оглядів [2].

Зв'язування інтегринів з їх лігандами є катіонзалежний процес, що протікає з низькою афінністю. Інтегрини розпізнають специфічну амінокислотну послідовність в лігандах і зв'язуються з нею [52]. Під час розвитку імунної відповіді різні клітини взаємодіють одна з одною. LFA-1 (Lymphocyte Function-Associated antigen) – інтегрин активації Т-лімфоцитів. Інші інтегрини (наприклад, CD2) також здатні активувати Т-лімфоцити [99, 114, 116].

VLA (Very Late Activation antigens) – інтегринову підродину було вперше описано як антигени, що з'являються через декілька тижнів після стимуляції на лімфоцитах *in vitro* [49]. Згодом ці антигени виявили на лімфоцитах та інших клітинах. Аналіз багатьох систем показав важливу роль VLA у клітинній адгезії до позаклітинного матриксу. Він експресується на Т-лімфоцитах на 2–4 добу після активації і сприяє проникненню вже імунного Т-лімфоцита у вогнище запалення [95]. ICAM (Intercellular Adhesion Molecules – молекули міжклітинної адгезії) відносяться до надсімейства імуноглобулінів.

Встановлено, що неімунні Т-лімфоцити в Т-залежних зонах периферичних лімфоїдних органів «прилипають» до АПК завдяки взаємодіям LFA-1, CD2 і ICAM-3 на Т-лімфоцит з ICAM-1, ICAM-2, LFA-1 і LFA-3 на АПК. Цей зв'язок

підтримується кілька діб, за цей час відбувається проліферація клону Т-лімфоцитів і диференціювання їх в лімфоцити-ефектори [117].

На Т-лімфоцитах людини комбінація VLA-інтегринів залежить від їх активності. На неактивних Т-клітинах знаходиться мало VLA-3 і багато VLA-4, VLA-5 і VLA-6, а VLA-1 і VLA-2 – відсутні. Після активації клітин *in vitro* експресія VLA-3, VLA-4 і VLA-5 посилюється, VLA-6 – зменшується і з'являється експресія VLA-1 і VLA-2 [104].

На В-клітинах знаходяться відмінні від представлених на Т-клітинах комбінації інтегринів. Зокрема, на В-лімфоцитах не представлені VLA-1, VLA-5 і VLA-6, низька кількість VLA-2 і VLA-3, однак, наявний VLA-4 [49].

Лейкоцитарні інтегрини представлені трьома гетеродимерними адгезивними рецепторами: LFA-1 (СТ CD1a/CD18), MAC-1 (СТ CD11b/CD18) та GP150, 95 (СТ CD11c/CD18) [106]. У нормі на Т- і В-лімфоцитах представлені тільки CD1a/CD18. На активованих гранулоцитах експресуються переважно СТ 1a/CD18, а не два інших антигени. Значний внутрішньоклітинний пул СТ 1b/CD18 і СТ 1c/CD18 знаходиться в циркулюючих гранулоцитах і моноцитах [8].

Суперсімейство імуноглобулінів включає в себе розташовані на плазматичній мембрані імуноглобуліни і Т-клітинний рецептор (TCR). Крім того, до них відносяться і антигеннезалежні рецептори (CD2 і LFA-3) [25].

Lobb R. у своїх дослідженнях встановив, що VCAM-1 який входить до суперсімейства імуноглобулінів залучається до лейкоцитарно-ендотеліальної взаємодії, при чому контррецептором для VCAM є VLA-4-інтегрин, знайдений на лімфоцитах, моноцитах і еозинофілів [73].

До молекул міжклітинної адгезії відносять також селектіни – трансмембранні білки на поверхні лімфоцитів, лейкоцитів та ендотеліоцитів. Спільним для них є наявність в позаклітинній частини лектиноподібною домену, здатного комплементарно зв'язувати цукор [112].

Отже, число поверхневих молекул, які можуть функціонувати як міжклітинні або клітинно-матриксні адгезивні білки, постійно збільшується завдяки накопиченню даних щодо їх структури та властивостей.

#### **1.4.2. Цитокіни**

Серед біологічно активних молекул регуляторів міжклітинні взаємодії імунної системи, провідне місце займають цитокіни. Подібно до нейротрансмітерів і гормонів, вони об'єднують цілий клас сигнальних молекул [125]. Цитокіни (ЦК) – це прості низькомолекулярні пептиди або глікопротеїни, які продукують всі клітини, але головним чином – макрофаги і лімфоцити. Синтез ЦК регулюється на рівні транскрипції і трансляції.

Виділяють 6 груп ЦК, з яких найбільш вивченими є – інтерлейкіни (ІЛ) та фактори росту (ФР). На відміну від гормонів, що підтримують гомеостаз, цитокіни та фактори росту забезпечують реакцію на введення антигену, генетичне пошкодження, а також запалення, репарацію і регенерацію. Багато дослідників розглядають цитокіни як «мікроендокринну систему» [59]. Вони формують мережу комунікаційних сигналів між клітинами імунної системи і клітинами інших органів і тканин [122].

Цитокіни вперше описано як низькомолекулярні поліпептиди, що зумовлюють взаємодію клітин імунної системи. Цитокіни є поліпептидами з молекулярної масою від 10 до 45 тис. Медіатори секретуються лімфоцитами і моноцитами, отримали назву відповідно «лімфокіни» і «монокіни». Коли було виявлено, що, й інші клітини здатні секретувати ідентичні медіатори, ці молекули стали називати цитокінами. Хоча універсальне визначення цитокінів відсутнє, їх розглядають як білки, що забезпечують розвиток запалення і імунної відповіді, що не виключає можливості секреції цих медіаторів у відповідь на вплив інших стимулів, таких як мікроорганізми і продукти їх життєдіяльності.

З 1976 року, коли був відкритий ІЛ-2, і до теперішнього часу описано більше 20 імунологічно-активних цитокінів, які згідно біологічної дії розділено на 5 класів: запальні; протизапальні; фактори росту і диференціювання

лімфоцитів; колонієстимулюючі фактори; фактори росту мезенхімальних клітин [31].

На сьогодні вивчені і описані в умовах *in vitro*, моделі визначають поведінку клітин *in vivo*. Встановлено, що більшість імунних реакцій контролюється цитокінами. Посилення продукції окремих цитокінів запалення або факторів росту лімфоцитів лежить в основі деяких захворювань. У той же час, зниження продукції деяких цитокінів також здатне провокувати захворювання.

Інтерлейкін-1 вперше описаний у 40-х роках як термолабільний білок, виявлений в ексудаті в гостру фазу запалення. Після його введення тваринам і людині спостерігається підвищення температури тіла [175]. За здатністю секрету макрофагів активувати лімфоцити він отримав назву «інтерлейкін-1». Інтерлейкіном-2 був названий Т-клітинний продукт, який здатен стимулювати Т-клітинну відповідь. Кілька інших факторів, вперше описаних за їхньою біологічною дією, згодом були відповідно ідентифіковані.

Більшість цитокінів секретується не постійно, а у відповідь на вплив антигенних, мітогенних або інших стимулів [160]. Індукція секреції цитокінів Т-клітинами зазвичай антигеноспецифічна, у той час, як секреція макрофагами залежить від наявності ендотоксинів, екзотоксинів, вірусів, мікроорганізмів [1]. Деякі цитокіни здатні індукувати секрецію інших цитокінів або підвищувати експресію тих чи інших цитокінових рецепторів. У певних системах окремі цитокіни діють як антагоністи.

ІЛ-6 виділений із супернатанту Т-клітин, як Т-хелперний фактор, індукує секрецію імуноглобулінів В-клітинами, і спочатку описаний як фактор, що звільняється Т-лімфоцитами (T-release factor, TRF) [61]. За імунної відповіді ІЛ-6 забезпечує дозрівання В-клітин [1].

ІЛ-4 спочатку був описаний як фактор, здатний підсилювати синтез ДНК в неактивних В-клітинах, стимульованих антитілами до IgM, однак пізніше встановлено, що його вплив не обмежується В-лімфоцитами, внаслідок чого він

отримав назву «інтерлейкін-4» [50]. На сьогодні ІЛ-4 розглядається як головний продукт субпопуляції Т-хелперів [124].

Поряд з традиційними імунними цитокінами, відкритий і описаний новий клас цитокінів з малою молекулярною масою, яких віднесено до суперсімейства білків тромбоцитарного фактору 4 (ТФ4) [12], який разом із іншими імунними цитокінами регулює імуннозапальні реакції.

## **1.5. Трансфер-фактор: природа, основні властивості та механізм дії**

### **1.5.1. Природа трансфер-фактора**

Термін «фактор перенесення», або «трансфер-фактор» (Transfer factors) запропонував Н. Lawrence, який вперше у 1955 році встановив можливість перенесення підвищеної чутливості сповільненого типу до туберкуліну і М-антигену стрептокока у практично здорових людей за допомогою лізату лейкоцитів крові донорів, сенсibilізованих цими речовинами [66]. Трансфер-фактори є по суті невеликі імунні молекули месенджерів, які виробляються у всіх вищих організмів [100]. У 1955 році вперше було здійснено перенесення гіперчутливості уповільненої типу до туберкуліну і білка-М стрептокока екстрактами зруйнованих лейкоцитів [67]. Фактори передачі спочатку були описані як імунні молекули, які отримані з крові або клітин селезінки і викликають гіперчутливість уповільненого типу та синтез лімфокінів, а також зв'язування антигенів. Вони мають молекулярну масу приблизно 5000 дальтон і складаються виключно з амінокислот [56]. У 2000 році Kirkpatrick виявив в С-кінцевих фрагментах різних факторів перенесення загальну амінокислотну послідовність LLYAQDL/VEDN і припустив, що дана ділянка бере участь у зв'язуванні факторів перенесення з рецепторами Т-клітини [57]. Lawrence вважав, що ТФ є древньою частиною імунної системи і являє собою «архаїчний діалект в мові клітин» [65].

На сьогодні залишається спірним питання щодо специфічності гіперчутливості сповільненого типу, що виникає після введення ТФ. В окремих випадках перенесення гіперчутливості сповільненого типу пояснюють

неспецифічною стимуляцією прихованої сенсibilізації реципієнтів. Однак, у багатьох дослідках не вдається показати перенесення гіперчутливості сповільненого типу, тоді лікувальний ефект ТФ є неспецифічною активацією клітинного імунітету [19].

Екстракт, отриманий Лоуренсом, складався більш, ніж з 200 компонентів з молекулярної масою від 1000 до 20000, однак лише один з них володів здатністю переносити гіперчутливість сповільненої типу (ГСТ) і мав молекулярну масу 3500 [69]. Далі встановлено, що це був низькомолекулярний антигенспецифічний рибонуклеопептид [39]. У подальших дослідженнях було доведено здатність виділеного ТФ у присутній серед інших компонентів діалізату лейкоцитів переносити клітинно-опосередкований імунітет від імунного донора неімунному реципієнту [30]. Встановлено, що неочищений діалізат лейкоцитів містить велику кількість речовин, які мають ад'ювантні і супресивні властивості, які отримали назву індукторного і супресорного факторів [118].

Трансфер-фактор секретується сенсibilізованими лімфоцитами під впливом специфічного антигену. Для дослідження його властивостей використовують активну фракцію діалізату зруйнованих лейкоцитів [128]. При введенні діалізату можна передати інтактному реципієнту опосередкований клітинами імунітет (ГСТ) до відповідного антигену. Цікаво відмітити, що будова ТФ залишається невідомою. Чутливість до окремих протеолітичних ферментів і РНК-ази, що розщеплює двохланцюгову РНК вказує на його нуклеопротейдну природу [22].

На сьогодні встановлено фізико-хімічні властивості активної фракції діалізату зруйнованих лейкоцитів. Встановлено, що ТФ має масу 3500–10000; містить нуклеотиди, пептиди, урацил, рибозу; відносно термостабільний (руйнується за  $t^{\circ} 56^{\circ}\text{C}$  впродовж 30 хв); не втрачає активність за  $t^{\circ} 37^{\circ}$  впродовж 6 год.; стійкий до повторного заморожування, розморожування та ліофілізації [84].

Проведений амінокислотний аналіз імунологічно-активної фракції трансфер-фактора, виявив наявність гліцину, глютаміну, аспаргіну, аланіну, серину, треоніну. Ароматичні і основні амінокислотні залишки зустрічались рідко [18]. У той же час, більшість дослідників вважає, що трансфер-фактор являє собою низькомолекулярну субстанцію олігорибонуклеопептидної природи [36]. Проте деякі дослідники вважають, що трансфер-фактор – це сімейство високополярних гідрофільних молекул з низькою молекулярною масою пептидної природи [97].

ТФ не має антигенних властивостей і не є антитілом. Встановлено здатність ТФ викликати утворення аналогічного ТФ у реципієнтів, однак, не передає інтактним реципієнтам здатність виробляти антитіла. Встановлено властивість ТФ перешкоджати розвитку толерантності до різних антигенів та сприяти дозріванню Т-лімфоцитів [17, 130].

Існують дані, що введення трансфер-фактора інтактним тваринам сприяє утворенню активних Е-розеток, хемотаксису клітин та розвитку реакції гальмування міграції макрофагів і лейкоцитів, бластотрансформації лімфоцитів, утворення інтерферону і IgM, розвитку ГСТ і клітинного імунітету [156].

ТФ прискорює диференціювання незрілих Т-лімфоцитів у ефекторні клітини ГСТ, що забезпечують розвиток різних клітинних реакцій. Трансфер-фактори зустрічаються навіть у самих примітивних імунних системах [120]. Встановлено відсутність міжвидової відмінності у імуномодуючих властивостях ТФ. Описано, що введення ТФ тваринам різних видів, від людини до тварини і від тварин людині впливає на імунну відповідь [130]. ТФ отриманий з периферичної крові ВРХ, може перенести ГСТ мишам, кроликам, собакам, мавпам, людям. Сенсibiliзовані лімфоцити людини можуть переносити ГСТ від людини морським свинкам, пацюкам та мишам [19].

На сьогоднішній день існують лише гіпотези про механізм дії діалізату лейкоцитів, які подекуди істотно різняться [15, 55, 68]. Найбільш поширена гіпотеза зв'язування ТФ із специфічними рецепторами на поверхні клітин, що приводить їх до активації, а потім до утворення групи імунокомплементарних



клітин [7]. Lawtence припустив, що перша популяція циркулюючих лімфоцитів під час взаємодії з активною частиною діалізату стає антигенспецифічною і починає проліферацію. У такому випадку ТФ є стимулятором імунної відповіді [69]. Bennett висунув гіпотезу, що ТФ моделює антигензв'язуючий рецептор Т-лімфоцитів, який набувають антигенної специфічності за рахунок модифікації мембранної структури [14, 15]. Натомість Т. Cech вважає, що за активність ТФ відповідає РНК, а за антигенспецифічність – пептид [22].

Mendes N. F. (1975) у дослідях *in vivo* встановив, що трансфер-фактор сприяє збільшенню кількості Е-роzetкоутворюючих клітин і посилює реактивність змішаної культури лейкоцитів у реципієнтів з імунодефіцитним станом [78]. Трансфер-фактор посилює неспецифічну трансформацію лімфоцитів, специфічно стимулює продукцію фактора, що інгібує міграцію [198].

Встановлено, що введення ТФ сприяє зростанню кількості колоній на одиницю введеного сингенного кісткового мозку з селезінці сублетально опромінених мишей та зміщує процентний склад колоній в бік еритроїдного ряду, що за дією нагадує еритропоетин [149].

Встановлено, що діалізний екстракт лейкоцитів (ДЕЛ) містить у своєму складі як індукторний, так і супресивний фактор [62]. Індукторний фактор зв'язується зі специфічним антигеном, до якого був отриманий діалізат лейкоцитів, але не з специфічними антитілами. Його виявлено в Т-хелперах, адсорбується Т-супрессорами і макрофагами. Встановлено, що індукторний фактор надає антигензв'язуючі властивості неімунним клітинам. Отже, індукторному фактору, властиві характеристики фактора переносу [96]. Супресивний фактор не бере участь в синтезі ТФ, а навпаки гальмує його утворення. Він зв'язується із специфічним IgG, але не з антигеном. Міститься в Т-супрессорах, відсутній в Т-хелперах і адсорбується Т-хелперами, макрофагами. Встановлено здатність супресивного фактора блокувати активність індукторного фактора, інгібуючи відповідь імунних клітин на

специфічний антиген *in vitro*. Отже, він пригнічує розвиток шкірних проб на специфічний антиген у імунізованих тварин.

Шляхом проведення реакції вірусної нейтралізації встановлено, що отриманий до збудника хвороби Ауєскі трансфер-фактор не індукуює синтезу вірусоспецифічних антитіл, здатних запобігати репродукції ВХА в чутливій культурі клітин, як у ксеногенних, так і у алогенних тварин [181].

У досліджах *in vivo* показано, що трансфер-фактор виявляє чітку специфічну протективну дію за експериментальної хвороби Ауєскі у морських свинок, обумовлюючи достовірну різницю між значенням  $LD_{50}$  дослідної і контрольної групи тварин ( $p < 0,05$ ) [182]. Найвищий індекс захисту обумовлював ТФ, отриманий з молозива імунізованих тварин.

Встановлено що комбіноване застосування антирабічної вакцини КоКАВ та трансфер-фактора антирабічного стимулює бласттрансформацію лімфоцитів у присутності специфічного антигену та мітогену ФГА ( $p < 0,001$ ) [183].

Трансфер-фактор, специфічний щодо вірусу чуми м'ясоїдних, призводить у собак до вірогідного збільшення популяції циркулюючих у крові лімфоцитів і зумовлює виразну зміну субпопуляційного складу Т-клітин, що виражається у зниженні числа теофілінчутливих лімфоцитів і підвищенні кількості теофілінрезистентних клітин. Після одноразового введення ТФ показник співвідношення  $T_H/T_S$  у дослідних тварин досягав максимальних значень через тиждень і становив 3,62, а ще через сім діб після повторного введення препарату зростав до 3,74. [187].

Застосування ТФ, специфічного щодо збудника чуми м'ясоїдних у собак, із лікувально-профілактичною метою є нешкідливим і безпечним, про що свідчать результати гематологічних досліджень [188].

Різновекторність дії ТФ на лімфоцити в РБТЛ полягає в тому, що відповідь на антигенну стимуляцію або зростає [6], або не змінюється, що деякі дослідники пояснюють гіпотонічністю чи гіпертонічністю ДЕЛ. Однак додаванням до культурального середовища ДЕЛ дистильованої води цього можна уникнути [5].

Отже, проведені дослідження свідчать, що трансфер-фактор володіє багатьма властивостями, які характерні для лімфокінів: сприяє дозріванню Т-клітин, хемотаксису клітин, реакції гальмування міграції лімфоцитів та макрофагів, бласттрансформації лімфоцитів, утворенню інших лімфокінів, розвитку ГСТ та клітинного імунітету. ТФ попереджує розвиток толерантності, але за певних умов здатний пригнічувати імунну відповідь [156].

Голева О. Г. із співавторами вивчаючи імуномодулюючу дію фактора переносу за умови радіаційного впливу встановила здатність досліджуваних препаратів ТФ послаблювати променеве ураження за умови тотального опромінення в експерименті [45]. Передбачається, що даний ефект ТФ полягає в його здатності стимулювати відновлювальні процеси в опроміненому організмі завдяки наявності комплексу гемо- та імунорегулюючих властивостей [192]. Застосування препаратів ТФ в модельних системах радіаційно індукованого імунодефіцитного стану (гіпотиреоз та вторинний імунодефіцит) сприяло відновленню імунної реактивності опромінених тварин [134]. Препарати стимулювали антистафілококову резистентність опромінених тварин з експериментальною стафілококовою інфекцією [155].

### **1.5.2. Сучасні методи отримання трансфер-фактора**

Уніфікована схема отримання препаратів ТФ складається з декількох послідовних етапів:

1. вибір донорів;
2. підготовка антигену;
3. сенсibiliзація донорів; виділення лімфоїдної маси;
4. отримання ДЕЛ;
5. тестування активності отриманого препарату ТФ.

Вибір донорів здійснюють з урахуванням конкретної мети використання отриманого препарату ТФ. Донорами можуть бути різні види тварин із фізіологічною зрілістю імунної системи [38]. Якщо препарат готується з метою попередження захворювання в конкретному господарстві, важливо, щоб і

тварини-донори також були з цього господарства, стада [162]. В якості антигену для сенсibilізації донорів використовують стандартні вакцини або інактивовані штами збудника (віруси, бактерії, найпростіші, гриби, токсини бактерій). Після імунізації донор повинен володіти високим ступенем сенсibilізації організму, який визначають за шкірною реакцією до антигену, на який перенесена гіперчутливість [41]. Матеріалом для отримання препарату ТФ є лімфоцити отримані з лімфатичних вузлів, селезінки, грудного лімфатичного протоку, периферичної крові та молозива сенсibilізованих донорів [94]. Для виділення ДЕЛ отриману суспензію лейкоцитів руйнують десятикратним заморожуванням-розморожуванням. Вносять кілька кристалів ДНК-ази та невелику кількість іонів Mg для деполімеризації ДНК. Для видалення високомолекулярних компонентів проводять діаліз. Отриманий діалізат заморожують сумішшю сухого льоду зі спиртом і ліофілізують. У такому вигляді ТФ зберігає активність впродовж року за 4° С [130].

Для тестування активності фактора переносу в діалізатах екстрактах лейкоцитів використовують реакцію інгібіції міграції лейкоцитів, реакцію гіперчутливості уповільненого типу, реакцію бласттрансформації, реакцію розеткоутворення і т.д.

### **1.5.3. Використання трансфер-фактора у ветеринарній та гуманній медицині**

Використання ДЕЛ у ветеринарній та гуманній практиці пов'язано із цілим рядом проблем, так як для отримання ТФ необхідно виділити від сенсibilізованих донорів велику кількість лейкоцитів. Вперше виділений діалізат лейкоцитів використаний як імуномодулятор Левіном у 1970 році [71]. Сьогодні препарат ТФ успішно використовують для лікування різних патологій, як в гуманній, так і у ветеринарній медицині за зниження Т-клітинної активності [121], різних інфекційних [115] та онкологічних захворюваннях [32, 90], зокрема, ДЕЛ із успіхом застосовують за бронхогенної карциноми [44], раку легень [47] та остеогенній саркомі [33].

Kirkpatrick (1979) встановив високу ефективність лікування кандидамікозу препаратами трансфер-фактора [54]. В окремих випадках ефективність лікування складала до 80 % [70].

Описано ефективність застосування ТФ під час лікування туберкульозу [88], пневмонії [79], стафілококової інфекції [89], сепсисі [74]. Доведено протипаразитарну дію ТФ, зокрема, під час лікування лейшманіозу [101, 102].

Існує велика кількість даних щодо ефективності застосування ДЕЛ під час лікування вірусних захворювань, зокрема, герпесу [21, 37, 115], вірусного гепатиту [98], гострої лімфоцитарної лейкемії [29].

Із кінця 80-х років у практиці гуманної медицини за дефіциту Т-клітинної ланки імунітету активно застосовують молозиво корів, яке містить ДЕЛ [72]. ДЕЛ із молозива корів ефективно використовують для лікування і парвовірусного ентериту собак, трансмісивного гастроентериту свиней [119].

Останнім часом доведено ефективність застосування ДЕЛ для лікування хвороб ВРХ та свиней. Встановлено високу профілактичну ефективність ДЕЛ виділеного із лімфоцитів тварин сенсibilізованих до збудника сальмонельозу щодо даної патології [80, 81]. Arnaudov A. та Tziporkov N. [9] отримали ТФ специфічний щодо *Salmonella ch. suis* з лімфоїдних органів кроля, двічі імунізованого відповідним антигеном. Препарат передавав ГСТ до антигену коровам, що доведено за результатами шкірної проби, а також викликав протекцію у 70 % білих мишей, заражених культурою *Salmonella ch. Suis*.

Описано використання ДЕЛ, отриманого від кроликів сенсibilізованих до *Eimeria stediai*, для лікування кокцидіозу ВРХ [60].

Повідомляється про високу ефективність трансфер-фактора активного імунітету проти хвороби Ауески [182]. Встановлено, що багатократне введення інактивованої емульгованої вакцини проти хвороби Ауески забезпечує отримання високоактивного фактора перенесення клітинного імунітету [181]. Це стверджується результатами його тестування *in vitro* – під час постановки реакції ІМЛ, а також результатами перенесення ГСТ від сенсibilізованих тварин-донорів інтактним тваринам-реципієнтам [182]. Активність ТФ, отриманого від

тварин, імунізованих шляхом трикратного введення антигену, була достовірно вищою за активність ТФ, виділеного від тварин, імунізованих дворазовим введенням антигену ( $p < 0,05$ ) [158].

Столюк В. В. у своїй роботі встановив, що зразки трансфер-фактора антирабічного, отримані із лімфоїдних органів за триразового введення свиням-донорам вакцини КоКАВ, за здатністю стимулювати провідні імунологічні показники, переважають аналогічні зразки за одноразового введення вакцини ( $p < 0,001$ ). Причому, більш активними виявилися зразки ТФ із селезінок, ніж з лімфовузлів [184]. Отримані зразки трансфер-фактора антирабічного активують неспецифічні фактори клітинного імунітету, зокрема: стимуляцію продукції пероксиду водню нейтрофілами, фагоцитарну активність поліморфонуклеарних лейкоцитів та макрофагів [185].

Доведено ефективність профілактики ротавірусних захворювань ДЕЛ отриманого від тричі сенсібілізованих ротавірусним антигеном бичків. Введення препарату бичкам-реципієнтам викликало стійку шкірну реакцію на ротавірусний антиген [197].

Препарат на основі ТФ молозива (Biomun OSF™ Plus) після тривалого перорального прийому стимулює активність НК-клітин у пацієнтів з неопластичними захворюваннями, синдромом хронічної втоми, алергіями, хронічними та зворотними інфекціями [28]. Препарати ТФ інтенсифікують синтезу інтерферону в організмі реципієнта [148].

Ташута О. С. досліджував основні імуномодулюючі властивості трансфер-фактора активного імунітету проти чуми м'ясоїдних [187] і встановив, що зразки трансфер-фактора, специфічного щодо чуми м'ясоїдних, інтенсивно стимулюють бласттрансформаційну активність лімфоцитів у присутності специфічного антигену та мітогену ФГА ( $p < 0,001$ ) [190]. А зразки трансфер-фактора активного імунітету проти вірусу чуми м'ясоїдних в умовах експериментальної інфекції на КЕ, обумовили виразний протективний ефект [189].

У дослідженнях О. В. Кухаркіної експериментально показано, що лімфоцити, виділені з крові, молозива і лімфоїдних органів тварин, імунізованих проти ротавірусної інфекції телят, парагрипу і інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби індукують у несенсибілізованих реципієнтів розвиток клітинного імунітету. Показано, що препарат фактора переносу посилює імунну відповідь телят на введення вакцини проти ротавірусної інфекції велика рогата худоба в порівнянні з одного вакцинацією [153]. За допомогою реакції ІМЛ під шаром агарози і РДП був встановлені терміни виникнення клітинного (3–7 діб) і гуморального (12–14 діб) імунітету у кролів на введення ротавірусного антигену великої рогатої худоби [152].

Не зважаючи на численні позитивні факти застосування ДЕЛ потрібно враховувати можливі важкі ускладнення внаслідок перенесення інфекційних агентів, таких, як віруси (внаслідок малого розміру молекули вірусу). З іншого боку причиною ускладнення може бути руйнування тканин з наступною елімінацією інфекційного агенту унаслідок активізації Т-клітин трансфер-фактором.

### **1.6. Заключення з огляду літератури**

Існують великі перспективи застосування трансфер-фактора для попередження та лікування захворювань тварин і людей. За літературними даними встановлено, що саме сенсибілізованим лімфоцитам належить провідна роль в передачі імунної реактивності від одного організму іншому.

Встановлено здатність сенсибілізованих лімфоцитів донорів, минаючи видовий бар'єр, переносити гіперчутливість сповільненого типу несенсибілізованими реципієнтам. Причому тривалість пасивно індукованої гіперчутливості сповільненого типу в несенсибілізованому організмі реципієнта зберігаються впродовж багатьох місяців, а в окремих випадках до декількох років. Механізм перенесення гіперчутливості за допомогою діалізного екстракту лімфоцитів на сьогодні повністю не встановлено, що свідчить про актуальність вибраної проблематики.

Клітинні фактори імунітету відіграють провідну роль у механізмі імунної відповіді під час різних захворювань, зокрема, за сальмонельозу. Трансфер-фактор в організмі реципієнта, зв'язується зі специфічними рецепторами на поверхні Т-лімфоцитів, викликаючи їх активацію та спеціалізацію імунокомпетентних клітин. Перенесення сенсibiliзації за допомогою діалізного екстракту лейкоцитів встановлюють за допомогою реакції гіперчутливості сповільненого типу, індексу міграції лейкоцитів та шкірної проби.

Незважаючи на досягнутий значний прогрес у вивченні патогенезу і імунної відповіді тварин на інфікування сальмонелою, деякі важливі питання залишаються невирішеними. Бактерії сальмонели мають механізми, щоб уникнути імунного захисту і викликають хронічні інфекції в організмі господаря. Імунна відповідь господаря включає в себе вроджені і адаптивні компоненти, які по-різному активні в слизових оболонках і системних лімфодних тканинах. CD4 – Т-клітини, як було показано, відіграють головну роль в захисному імунітеті під час первинної і вторинної сальмонельозної інфекції. Отримані дані свідчать про те, що ефекторні Т-клітини можуть бути активовані неспецифічним чином, за допомогою трансфер-фактора.

Отже, наявні засоби специфічної та неспецифічної профілактики інфекційних хвороб тварин недостатньо ефективні. Тому актуальним на сьогодні завданням є розробка методів та способів профілактики захворювань із використанням препаратів трансфер-фактора. Однак для їх отримання потрібно удосконалити і оптимізувати методику виділення імунокомпетентних клітин, так як існуючі раніше методики не володіють достатньою ефективністю. Вирішення нагальних питань з отримання та використання препаратів трансфер-фактора є фундаментом для подальшого вивчення клітинних медіаторів і можливості їхнього застосування з лікувально-профілактичною метою у ветеринарній практиці.



## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили в період з 2006 по 2020 роки на базі лабораторії ветеринарної мікробіології, вірусології та імунобіотехнології кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології (з лютого 2020 р. – кафедра епізоотології, мікробіології і вірусології) Національного університету біоресурсів і природокористування України та в умовах тваринницьких господарств (ВП НУБіП України НДГ «Агрономічна дослідна станція» Васильківського р-ну, Київської області, ВАТ «Плодородсадницьке» с. Петрівське Києво-Святошинського р-ну, Київської області та СТОВ «Колос» Ічнянського району Чернігівської області).

Для виконання поставленої мети було проведено дві серії досліджень. У **першій серії** досліджень удосконалено методику отримання трансфер-фактора з лімфоцитів молозива та молока корів (рис. 2.1). Як тварин-донорів використовували корів української чорно-рябої молочної породи, віком 4–5 років (друга – третя лактація). Сенсibilізацію тільних корів здійснювали концентрованою формол-галуновою вакциною проти сальмонельозу (паратифу) телят, виготовленою Херсонською біофабрикою (ТУ У 46.15.158-96). Було підібрано три групи тільних корів-аналогів за 1–1,5 місяці до отелення (по 10 тварин у групі). Коровам I дослідної групи вакцину вводили за місяць до отелення, одноразово в дозі 10 мл. Коровам II дослідної групи вакцину вводили дворазово за 1,5 місяці до отелення з інтервалом 10 діб у дозах 10 та 15 мл. Коровам контрольної групи вводили відповідну кількість ізотонічного розчину NaCl. Для визначення наявності ознак сенсibilізації до збудника сальмонельозу використали алергічну шкірну пробу через 14 діб після введення вакцини.

До початку сенсibilізації та через два тижні після від 5 корів із кожної групи відібрали проби крові із яремної вени для морфологічних і біохімічних досліджень. У цільній крові підраховували кількість еритроцитів, лейкоцитів, визначали лейкограму, швидкість осідання еритроцитів та вміст гемоглобіну. У

сироватці крові визначали активність аспартат- та аланінамінотрансферази, вміст загального білка, глюкози, креатиніну, Кальцію, Фосфору, Калію та Натрію.

Після отелення корів відбирали проби молозива і молока в ємності з стабілізуючим розчином запропонованим співробітниками кафедри. Визначали його ветеринарно-санітарні показники (жирність, кислотність, густину та вміст білка).



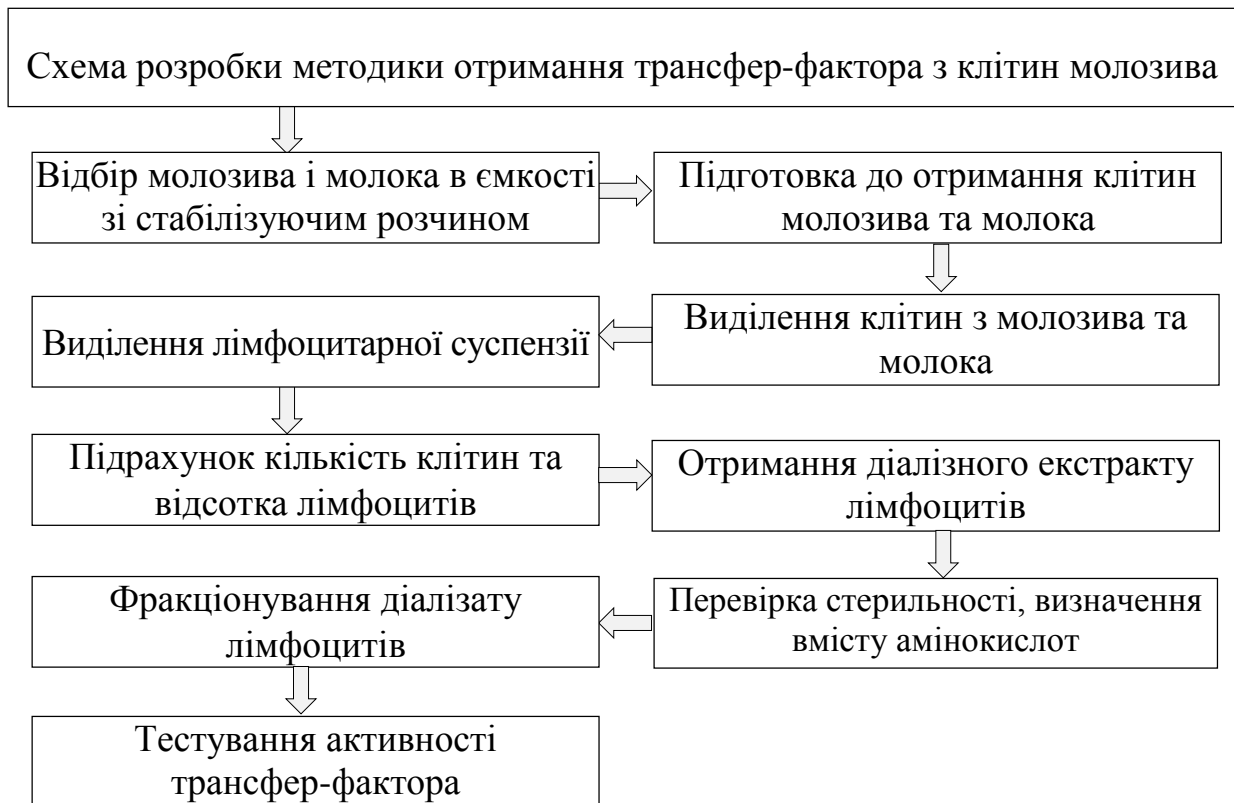
**Рис. 2.1. Схема першої серії досліджень**

Виділення трансфер-фактора проводили згідно поданої схеми (рис. 2.2). Після знежирення отриманих проб молозива шляхом центрифугування проводили коагуляцію казеїну з найменшими втратами сироваткових білків, що була підібрана нами експериментально.

Для виділення клітин молозиво центрифугували впродовж 50 хвилин за 400g. Після центрифугування обережно знімали верхній жировий прошарок, відбирали надосадову рідину, а осад клітин ресуспендували у розчині Хенкса.

Виділення лімфоцитарної суспензії здійснювали шляхом центрифугування на роздільному середовищі, яке було підібрано експериментально. У якості

роздільного середовища найкраще себе проявив розчин сахарози з урографіном, що і використовувався у подальшому.



**Рис. 2.2. Схема розробки методу виділення трансфер-фактора на основі клітин молозива корів**

Для отримання діалізного екстракту лімфоцитів клітини руйнували шляхом десятиразового заморожування-розморожування ( $-20^{\circ}\text{C} \dots +37^{\circ}\text{C}$ ). Клітинний детрит осаджували шляхом центрифугування, а надосад діалізували. Після закінчення діалізу діалізат переносили у стерильний посуд, визначали стерильність препарату та заморожували. Діалізовані зразки перевіряли на активність у реакції інгібіції міграції лейкоцитів (ІМЛ).

Фракціонування отриманого діалізату проводили за допомогою гель-фільтрації (за допомогою Сефадекс-G25). Зразок трансфер фактора розділили на 7 фракцій. Кожну фракцію перевіряли на активність у реакції інгібіції міграції лейкоцитів.

Тестування активності трансфер-фактора здійснювали *in vivo* – шляхом перенесення гіперчутливості сповільненого типу ксеногенним реципієнтам (білим мишам лінії BALB/C) та *in vitro* – за допомогою реакцій інгібіції міграції лейкоцитів під шаром агарози. Наявність гіперчутливості сповільненого типу виявляли за допомогою постановки внутрішньошкірної алергічної проби.

Отже, за результатами першої серії досліджень було удосконалено метод отримання трансфер-фактора із молозива корів та отримано трансфер-фактор від сенсibilізованих корів.

Випробування ефективності застосування трансфер-фактора з профілактичною та лікувальною метою за шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят здійснювали у другій серії досліджень (рис. 2.3).

На першому етапі досліджень вивчали вплив введення трансфер-фактора на показники імунореактивності організму телят. Для проведення цього дослідження було підібрано три групи новонароджених телят. Телятам I дослідної групи до першого випоювання молозива задавали по 1 мл трансфер-фактора із лімфоцитів молозива несенсибілізованих корів. Телятам II дослідної групи до першого випоювання молозива задавали по 1 мл трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива від корів-донорів, сенсibilізованих дворазовим введенням протисальмонельозної вакцини. Телятам контрольної групи трансфер-фактор не задавали, відразу випоювали молозиво.

Матеріалом для досліджень слугувала кров телят отримана через 7, 14 та 21 добу після застосування трансфер-фактора. У цільній крові тварин визначали популяційний та субпопуляційний склад імунокомпетентних клітин, фагоцитарну активність та фагоцитарний індекс.



**Рисунок 2.3. Схема другої серії досліджень**

На другому етапі другої серії досліджень вивчали ефективність трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива, під час профілактики захворювань травного каналу з ознаками діареї у новонароджених телят та лікуванні хворих тварин. Дослід проводили у господарстві, неблагополучному щодо сальмонельозу та шлунково-кишкових захворювань у новонароджених телят. (СТОВ «Колос» Ічнянського району Чернігівської області). У період проведення

досліджень 95 % телят, що народжувались, захворювали з ознаками ураження травного каналу.

Для досліду було підібрано дві групи новонароджених телят, по 20 тварин у кожній. Телят контрольної групи лікували за традиційною схемою, що використовується в господарстві (антидегідратаційні та антимікробні засоби).

Телятам дослідної групи відразу після народження задавали трансфер-фактор у дозі 1 мл (із профілактичною метою). У разі виникнення ознак захворювання, тварин лікували. Окрім застосування згаданих вище засобів терапії, телятам задавали по 1 мл трансфер-фактора, з інтервалом 24 год до повного їх одужування.

У тварин обох груп визначали температуру тіла, частоту пульсу та дихання. Ефективність профілактики шлунково-кишкових захворювань у телят оцінювали за показниками захворюваності тварин, формою і тривалістю перебігу хвороби. Визначали терапевтичний ефект проведених лікувально-профілактичних заходів.

## **2.1. Дослідження молока і молозива**

Проби молозива відбирали у скляні банки місткістю 0,5.

Для визначення показників якості молока та молозива використовували стандартні методики та методи:

- масова частка жиру – згідно з ГОСТ 5867;
- масова частка білку – згідно з ГОСТ 23327, ГОСТ 25179;
- густина – згідно з ГОСТ 3625;
- кислотність – згідно з ГОСТ 3624.

Підрахунок клітин молозива проводили за наступними методами:

1. Пескотта-Брида;
2. Виноградського-Шульгіна- Пріскотта-Бріда;
3. на сітці лічильної камери Горяєва;
4. розробленою нами методикою.

*Метод Пескотта-Брида.* Чисте предметне скло кладем на аркуш паперу, розкреслений на квадрати, сторона яких – 1 см. Пробу суспензії перемішуємо і мікропіпеткою наносим на кожен квадрат предметного скла по  $0,005 \text{ см}^3$  та ретельно розподіляємо по площі квадрата. Мазок висушуємо на повітрі, фіксуємо метиловим спиртом та фарбуємо за Романовським-Гімза. Після фарбування препарат промивали трикратно теплою водою ( $37\text{--}40^\circ \text{C}$ ). Мазок ретельно висушували і оцінювали під мікроскопом. У кожному мазку переглядали 100 полів зору. Підраховану кількість клітин множили на коефіцієнт з урахуванням об'єктива і окуляра (для мікроскопа при об'єктиві 90 і окулярі 7 цей коефіцієнт дорівнює 6260, при окулярі 10 – 10200, при окулярі 15 – 33200).

*Метод Виноградського-Шульгіна-Брида.* На чисте предметне скло наносили 0,01 мл суспензії клітин рівномірно розподіляючи за допомогою бактеріальної петлі на площі в  $4\text{--}6 \text{ см}^2$ . Після просушування препарат фіксуємо 10–20 хв 96 % спиртом та фарбуємо за Романовським-Гімза. Пофарбовані препарати промивали і висушували. Підрахунок клітин проводили з іммерсійним об'єктивом не менше, ніж у 100 полях зору, пересуваючи препарат по діагоналі. Кількість клітин, що містяться в 1 мл суспензії, обчислювали за формулою:

$$M = A * S / V * s \quad (2.2)$$

де М – кількість клітин в 1 мл; А – середнє число клітин в полі зору; s і S – площа поля зору і приготованого мазка в  $\text{мкм}^2$ , відповідно; V – об'єм нанесеної на скло суспензії у мл. Площу поля зору визначали за допомогою математичних розрахунків даних з мікрометра, який поміщали на столик мікроскопу за того ж збільшення.

*Метод підрахунку клітин суспензії на сітці лічильної камери Горяєва.* Суспензію клітин вносили у камеру мікропіпеткою. Підрахунок клітин починали через 3–5 хв після заповнення камери. Кількість клітин підраховували із об'єктивом  $8\times$  або  $40\times$ . Підраховували клітини у 10 великих або 20 маленьких квадратах сітки, переміщаючи останні по діагоналі. Для одержання достовірного результату загальне число підрахованих клітин мікроорганізмів повинне бути не

менш 600. Кількість клітин в 1 мл досліджуваної суспензії обчислюють за стандартною формулою.

*Раціональна методика підрахунку кількості клітин у суспензії лімфоцитів.* За основу методики запропонованої співробітниками кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології (Козловська Г. В., Скибіцький В. Г.) було взято класичну методику Виноградського-Шульгіна-Бріда. Відмінність методики заключається у:

1. використання пластикових мікропланшет з плоскодонними лунками, що мають значні переваги перед предметним склом:

- використання у якості досліджуваного носія щільного об'єкту предметного скла є недостатньо зручним для нанесення досліджуваної суспензії на визначену площу, а вразі використання мікрокамер – втрачається можливість застосування імерсійної системи мікроскопу;

- заздалегідь відома площа дна лунок, що значно спрощує обчислення;

2. у якості барвника застосовуємо фарбу – метиленовий синій, що зменшує час фарбування мазка з 10–15 хв (за Романовським-Гімза) до 3–5 хв;

3. підрахунок клітин суспензії у лунках проводили у 10 полях зору, що значно зменшує час на дослідження і статистично не різниться із показниками у 50–100 полях (як у аналогічного методу).

Для отримання клітин молозива їх осаджували центрифугуванням впродовж 50 хвилин за 400 g. Після цього обережно знімали верхній жировий прошарок, відбирали надосадову рідину, а осад клітин ресуспендували в розчині Хенкса. Отриману суспензію клітин двічі відмивали розчином Хенкса шляхом центрифугування за 400 g впродовж 10 хвилин.

## **2.2. Методика виділення трансфер-фактора**

Для виділення клітин відбирали молозиво у стерильні скляні флакони і терміново доставляли у лабораторію в термосі з льодом. Перед виділенням клітин молозиво розводили в 2 рази 0,85 % розчином NaCl. Клітини молозива осаджували центрифугуванням 20 хвилин за 400 g. Після центрифугування



ретельно знімали верхній жировий шар, відбирали надосадову рідину, осад ресуспендували, змішували з надосадом і отриману суспензією розводили сольовим розчином Хенкса з антибіотиками у 2 рази і виділяли лімфоцити методом фракціонування на роздільному середовищі. Отриману клітинну суспензію двічі відмивали центрифугуванням впродовж 10 хвилин за 400 g. Виділену суспензію лімфоцитів руйнували десятиразовим заморожуванням-розморожуванням. Заморожування проводили за температури 20°C, розморожування – за температури +37°C. Після цього проводили осадження клітинного детриту шляхом центрифугування впродовж 30 хвилин за 400 g. Клітинну суспензію у стерильних умовах переносили в попередньо промиті стерильним 0,85% розчином NaCl діалізні мішечки з пропускною здатністю до 10000 Да включно та поміщали у колбу з стерильною апірогенною дистильованою водою. Діаліз здійснювався за 40 °C впродовж 24 годин з постійним помішуванням на магнітній мішалці. Співвідношення між діалізатом і фізіологічним розчином складало 1:3. Кожний зразок діалізату перевіряли на стерильність шляхом посіву на м'ясопептонний агар (МПА) та м'ясопептонний бульйон (МПБ).

Визначення вмісту амінокислот проводили з використанням системи вискоєфективної рідинної хроматографії Agilent 1260 Infinity з блоком постколонкової дериватизації нінгідрином згідно ISO 13903:2005. Фракціонування здійснювалося методом колоночної гельпроникаючої хроматографії (використовували Сефадекс-G25).

### **2.3. Методика досліджень імунобіологічних властивостей трансфер-фактора**

Реакцію **інгібіції міграції лейкоцитів** проводили за принципом, в основі якого – здатність лейкоцитів після повторного контакту з антигеном продукувати лімфокіни, які впливають на міграцію індикаторних клітин. Суспензію лейкоцитів селезінки мишей попередньо інкубували за різного розведення досліджуваного препарату з додаванням специфічного антигену. Цю реакцію

проводили у пластикових чашках Петрі під шаром агарози за методикою Г. Фрімеля. Для отримання суспензії лейкоцитів використовували селезінку нелінійних білих мишей. Концентрація клітин в  $1 \text{ см}^3$  суспензії становила не менше  $4 \times 10^8$ .

Досліджувані зразки трансфер-фактора розводили живильним середовищем 199 у співвідношенні від 1:5 до 1:40. У лунки полістиролової планшети вносили по  $0,1 \text{ см}^3$  суспензії лейкоцитів та додавали нативні і розведені зразки трансфер-фактора по  $0,1 \text{ см}^3$ , інкубували у термостаті за температури  $37^\circ\text{C}$  – 60 хв. Після інкубації в кожен лунку додавали  $0,02 \text{ см}^3$  вакцинного штаму збудника сальмонельозу та інкубували одну годину за температури  $37^\circ\text{C}$ . У шарі агарози робили лунки, в які вносили проінкубовану суспензію. Для дослідження кожного зразка діалізного екстракту лейкоцитів брали окрему чашку, в якій робили по сім лунок. Як контрольні тест-систем використовували суспензію лейкоцитів у живильному середовищі, до яких додавали ДЕЛ без сенсебілізації та суспензію клітин без діалізного екстракту лейкоцитів. Чашки інкубували за температури  $37^\circ\text{C}$  впродовж 24 год. Результати реакції фіксували шляхом обробки чашок з метанолом впродовж 30 хвилин, а потім стільки ж з 33 % формальдегідом.

Шар агарозного гелю обережно відокремлювали скальпелем, чашки ополіскували дистильованою водою. Фарбування зон міграції проводили за методом Романовського. Потім за допомогою фотозбільшувача чи проектора зони міграції проектували на папір за однакового збільшення, позначали зони міграції простим олівцем, вирізали та зважували. За результат брали середнє значення маси спроектованих зон міграції семи лунок. Індекс міграції визначали за формулою:

$$IM = A/B * 100\% \quad (2.1)$$

де А – середнє значення маси зон міграції в дослідних тест-системах; В – середнє значення маси зон міграції в контролі.

**Постановка внутрішньошкірної алергічної проби.** Принцип методу базується на тому, що лімфокіни впливають на реакції гіперчутливості

сповільненого типу (ГСТ) як опосередковано, активуючи Т-лімфоцити, так і самостійно, викликаючи лізис клітин-мішеней. Мікроскопічно реакція ГСТ характеризується фазовою інфільтрацією місця введення алергену нейтрофілами, лімфоцитами та макрофагами. Візуально реєструється наявність еритеми та набряку, котрі виникають через 6–7 годин після введення антигену і поступово нарастають, зникаючи через декілька діб або тижнів, що має пряму залежність від ступеня сенсibilізації імунокомпетентних клітин.

Для перенесення ГСТ за допомогою отриманих зразків трансфер-фактора у якості реципієнтів використовували білих мишей. Одна доза ДЕЛ була рівноцінною діалізату  $4 \times 10^8$  клітин. Зразки діалізного екстракту лейкоцитів вводили інтраперитонеально. Для дослідження кожного зразку за принципом аналогів використали по десять тварин. Контрольній групі тваринам вводили неспецифічний трансфер-фактор, а тваринам дослідної групи – трансфер-фактор отриманий із лімфоцитів молозива сенсibilізованих корів. Через шість діб в плюсневий м'якуш правої лапи вводили по 0,05 мл сальмонельозної вакцини в розведенні 1:10, а лівої – стерильний апірогенний 0,9 % розчин NaCl в тому ж об'ємі. Товщину шкірної складки вимірювали перед введенням алергену, через 24, 48, 72, 96 та 120 годин до повного зникнення набряку та еритеми. За позитивний результат вважали потовщення складки плюсневого м'якушу, що вірогідно перевищувало відповідні показники тварин контрольних груп.

#### **2.4. Біохімічні та морфологічні методи досліджень крові**

Підрахунок кількості **еритроцитів** крові здійснювали на сітці лічильної камери Горяєва. Визначення **швидкості осідання еритроцитів** (ШОЕ) проводили за методом Вестергрена.

Вміст **гемоглобіну** у крові визначали гемоглобінціанідним методом – шляхом його взаємодії заліzosинеродистим калієм, де він окиснюється до метгемоглобіну, що утворює з ацетонціангідрином забарвлений геміглобінціанід, інтенсивність забарвлення якого пропорційна до вмісту гемоглобіну.

Визначення активності **амінотрансфераз** (аланінамінотрансферази – АлАТ, К. Ф. 2.6.1.2 та аспартатамінотрансферази – АсАТ, К. Ф. 2.6.1.1) проводили за методом Райтман-Френкеля. Принцип методу базується на тому, що в результаті переамінування, яке проходить під дією АлАТ і АсАТ, утворюються щавелевооцтова і піровиноградна кислоти, які за додавання 2,4-динітрофенілгідразину утворюють в лужному середовищі забарвлені гідрозони, що мають максимум поглинання за довжини хвилі 500–560 нм [154].

Визначення вмісту **загального білка** проводили за методом Лоурі. Метод поєднує реакцію на пептидні зв'язки та реакцію Фоліна на тирозин і триптофан. Досліджуваний зразок, що містить 10–100 мкг білка, доводили дистильованою водою до 0,4 мл. Змішували з 2 мл реактиву і залишали за кімнатної температури на 10 хв. Додавали 0,2 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу, старанно перемішували і через 30–40 хв вимірювали величину оптичної густини за 750 нм. Для побудови калібрувального графіка, у 6 хімічних пробірок поміщали відповідно 0,04; 0,008; 0,10; 0,24; 0,32; 0,40 мл розчину альбуміну, що містить 0,25 мг білка в 1 мл, і дистильованою водою доводили до 0,40 мл. Подальшу обробку проводили аналогічно як досліджуваний зразок. Отримані величини оптичної густини відкладали на осі ординат, а концентрацію білка – на осі абсцис [154].

Вміст **глюкози** визначали глюкозооксидазним методом. Принцип методу полягає в тому, що під час окиснення глюкози глюкозооксидазою утворюється  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Перекис водню у присутності пероксидази окиснює О-діанізидин, перетворюючи його у сполуку, забарвлену в синій колір. 0,02 мл сироватки крові переносили у пробірки, що містять 4,5 мл пероксидазного буфера і 0,5 мл глюкозооксидазного реактиву. Пробірки поміщали на 30 хв у водяну баню за температури 37° С і після охолодження додавали 1,5 мл 50 % сірчаної кислоти. Інтенсивність забарвлення визначали фотометрично за довжини хвилі 530 нм. Кількість глюкози у мг% визначали за формулою:

$$X = E * 320 \quad (2.3)$$

де: E – оптична щільність досліджуваної проби; 320 – постійний коефіцієнт [154].

Визначення **креатиніну** в сироватці крові проводили за кольоровою реакцією Яффе (метод Поппера). Принцип методу: креатинін реагує з пікриною кислотою в лужному середовищі з утворенням забарвлених з'єднань. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації креатиніну [154].

Визначення **загального кальцію** в сироватці крові проводили комплексом Арсеназо III. Арсеназо III – металокомплексон із групи діазокомплексоутворювачів, які мають неординарну спорідненість з різними іонами металів. Під час змішування розчину Арсеназо III і сироватки утворюється комплекс кальцію з Арсеназо III, який характеризується поглинанням випромінювання з максимумом 650–670 нм. Інтенсивність поглинання прямо пропорційна концентрації кальцію в діапазоні 0,5–3,5 ммоль/л. До 5 мл робочого реактиву Арсеназо III додають 50 мкл сироватки, змішують. Через 2 хв і пізніше вимірюють оптичну густину зразків сироватки крові супроти робочого реактиву Арсеназо III в кюветі з товщиною шару рідини 10 мм за довжини хвилі 590 нм. Паралельно готують стандартну пробу аналогічно до дослідної, але замість сироватки додають 50 мкл стандартного розчину кальцію з концентрацією 2,5 ммоль/л [154].

Визначення **неорганічного фосфору** в сироватці крові проводили за відновленням фосфорно-молібденової кислоти. Принцип методу базується на тому, що після осадження білків у центрифугаті залишається неорганічний фосфор, який з молібденовою кислотою утворює фосфорно-молібденову кислоту. Остання відновлюється ейконогеном до синього фосфорно-молібденового комплексу. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації неорганічного фосфору в сироватці крові [154].

Визначення **іонів натрію** у сироватці крові проводили Mg-уранілацетатним колориметричним тестом. Принцип методу базується на тому, що натрій преципітується Mg-уранілацетатом. Іони уранілу, що залишилися в суспензії, утворюють жовто-коричневий комплекс з тіогліковою кислотою. Різниця між бланк-реагентом (без преципітації натрію) і досліджуваним зразком пропорційна концентрації натрію [154].

Концентрацію **калію** у сироватці крові визначали турбідиметричним методом без депротейнування. Принцип методу полягає у тому, що під час взаємодії калію з іонами тетрафенілборату у лужному середовищі утворюється стабільна суспензія. Каламутність суспензії, виміряна за довжини хвилі 578 нм, пропорційна концентрації іонів калію у сироватці крові [154].

## **2.5. Методика досліджень показників неспецифічного та специфічного імунного захисту тварин**

Визначення **фагоцитарної активності (ФА)** та **фагоцитарного індексу (ФІ)** нейтрофілів. До 0,2 мл гепаринізованої крові додавали 0,1 мл тест-культури дріжджів. Пробірки з приготованою сумішшю обережно струшували і поміщали в термостат на 30 хвилин. Струшування пробірок повторювали кожні 10 хвилин для кращого контакту клітин крові з тест-мікроорганізмами. Після 30-хвилинної інкубації пробірки із сумішшю центрифугували за 2000 об/хв, відбирали верхній шар плазми, а із лейкоцитарного прошарку робили по 3 мазки на предметних скельцях, які висушували, фіксували метанолом та фарбували за методом Романовського. В пофарбованих мазках підраховували 200 лейкоцитів і кількість мікробних тіл, фагоцитованих ними. Фагоцитарну активність нейтрофілів та фагоцитарний індекс визначали за Н.В. Медунициним та ін. Фагоцитарну активність визначали за формулою:

$$ФА = \Phi / B * 100 \quad (2.4)$$

де А – кількість активних клітин; В – загальна кількість підрахованих нейтрофілів.

Фагоцитарний індекс визначали за формулою:

$$ФІ = C + b/a \quad (2.5)$$

де С – кількість життєздатних мікроорганізмів; b – кількість нежиттєздатних мікроорганізмів; а – кількість активних нейтрофілів.

Кількість **лейкоцитів** підраховували в камері Горяєва. **Лейкограму** виводили методом Філіпченко [154].

Визначення кількості **Т-лімфоцитів** у периферичній крові проводили за методикою що базується на наявності у Т-лімфоцитів усіх субпопуляцій мембранних рецепторів до еритроцитів барана і їх здатності утворювати з ними міцні комплекси. Для цього 5 мл крові вносили у пробірку з розчином гепарину й обережно нашаровували на суміш фікол-пака, що сприяє виділенню лімфоцитів, і піддавали центрифугуванню впродовж п'яти хвилин за 200 g. Після центрифугування шар лімфоцитів обережно знімали і визначали кількість життєздатних клітин в камері Горяєва. Далі концентрацію живих лімфоцитів доводили до  $4 \times 10^6 / \text{см}^3 / \text{л}$  ( $4 \times 10^9 / \text{дм}^3$ ) і змішували із 0,5 % суспензією еритроцитів барана в співвідношенні 1:1. Отриману суміш інкубували за 37° С впродовж 10 хв і центрифугували, після чого витримували у холодильнику за температури 4 °С впродовж двох годин. Підраховували число «розеток» на 200 лімфоцитів і визначали процентний вміст Т-лімфоцитів за допомогою камери Горяєва. Для визначення абсолютної кількості Т-лімфоцитів у день дослідження робили загальний клінічний аналіз крові [154].

Визначення **активних Т-лімфоцитів**. Метод базується на здатності активних Т-лімфоцитів до спонтанного розеткоутворення без попередньої інкубації. Хід дослідження той же, що і під час визначення загального числа Т-лімфоцитів, за винятком етапу інкубації.

Визначення **субпопуляцій Т-лімфоцитів** проводили за принципом, виявлення теофілінчутливих і теофілінрезистентних лімфоцитів (Етфч-РУК і Етфр-РУК). Методика кількісного визначення Т-супресорів і Т-хелперів ідентична до попередньої (тесту розеткоутворення), за винятком додавання в інкубаційне середовище 0,5 % розчину теофіліну. При цьому, Т-супресори (теофілінчутливі клітини) втрачають здатність до розеткоутворення з еритроцитами барана, а Т-хелпери (теофілінрезистентні клітини) таку здатність зберігають.

Визначення кількості **В-лімфоцитів**. Методи визначення кількості В-лімфоцитів базуються на наявності на поверхні цих клітин специфічних рецепторів до імуноглобулінів і комплементу (C<sub>3</sub>). Для проведення тесту ЕАС-

розеткоутворення до еритроцитів барана додавали антисироватку імунізованого кролика, що містить антитіла до еритроцитів. При цьому підбирали таку концентрацію імуноглобуліну, що не призводила до аглютинації еритроцитів і їхнього гемолізу. До комплексу, що утворився, ЕА (еритроцити-антитіла) додавали сироватку крові мишей, що містила комплемент ( $C_3$ ), одержуючи в такий спосіб ЕАС-комплекс (еритроцити-антитіло-комплемент). Далі хід реакції той же, що і під час визначення Т-лімфоцитів: виділену суспензію досліджуваних лімфоцитів змішували із заздалегідь приготовленою ЕАС-системою. Еритроцити барана, з фіксованими на них IgM і комплементом, приєднуються до В-лімфоцитів, у результаті чого утворюються «розетки». Підрахунок кількості цих «розеток» проводили у камері Горяєва [154].

Абсолютну кількість **лімфоцитів** у крові тварин визначали за формулою:

$$N = (A/100) * K \quad (2.6)$$

де N – абсолютна кількість лімфоцитів в 1 мкл крові тварин; K – відсоток лімфоцитів; A – кількість лейкоцитів в 1 мкл крові. Абсолютну кількість Т-лімфоцитів у крові тварин визначали за формулою:

$$N = (A/100) * K \quad (2.7)$$

де N – абсолютна кількість Т-лімфоцитів в 1 мкл крові тварин; K – відсоток Т-лімфоцитів; A – абсолютна кількість лімфоцитів у 1 мкл крові.

Абсолютну кількість В-лімфоцитів у крові тварин визначали за формулою:

$$N = (A/100) * K \quad (2.8)$$

де N – абсолютна кількість В-лімфоцитів в 1 мкл крові тварин; K – відсоток В-лімфоцитів; A – абсолютна кількість лімфоцитів в 1 мкл крові.

## 2.6. Статистичні дослідження та біоетична оцінка

Під час проведення експериментальних досліджень дотримувались міжнародних вимог Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» і узгоджувалися з основними принципами «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), декларації «Про



гуманне ставлення до тварин» (Гельсінкі, 2000) і Національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2001).

Одержані цифрові дані опрацьовували статистично: визначали середньоарифметичну величину ( $M$ ); середньоквадратичну помилку ( $m$ ) і вірогідність різниць ( $p$ ) між досліджуваними показниками. Ймовірність різниць середніх значень встановлювали за критерієм Стюдента. Проводили однофакторний та багатофакторний дисперсійний аналіз для встановлення ступеня впливу ( $\eta^2$ ) введення трансфер-фактора на той або інший показник та вірогідність такого впливу. Коефіцієнти кореляції ( $r$ ) розраховувалися методом Пірсона за допомогою прикладного програмного комплексу «Microsoft Office Excel 2013». Різницю між двома величинами вважали достовірною за  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ .

## **2.7. Узагальнення до матеріалів і методів досліджень**

За результатами оцінки клінічних параметрів та біохімічних досліджень крові корів сформовано групи клінічно здорових тільних корів для виділення трансфер-фактора з їхнього молозива. Удосконалено методику виділення специфічного трансфер-фактора щодо збудника сальмонельозу. Підібрано адекватні методики та методи оцінки імунологічних властивостей препарату. Розроблена та апробована ефективна схема лікування та профілактики хвороб травного каналу телят, що впливає із об'єктивної оцінки клінічних параметрів тварин та терапевтичного ефекту лікування.

Статистична обробка отриманих результатів досліджень дозволила встановити достовірний вплив рівня сенсibilізації організму тварин на біохімічні та морфологічні показники крові та вивчити вплив трансфер-фактора на резистентність телят, їхній клінічний статус та обмін речовин.

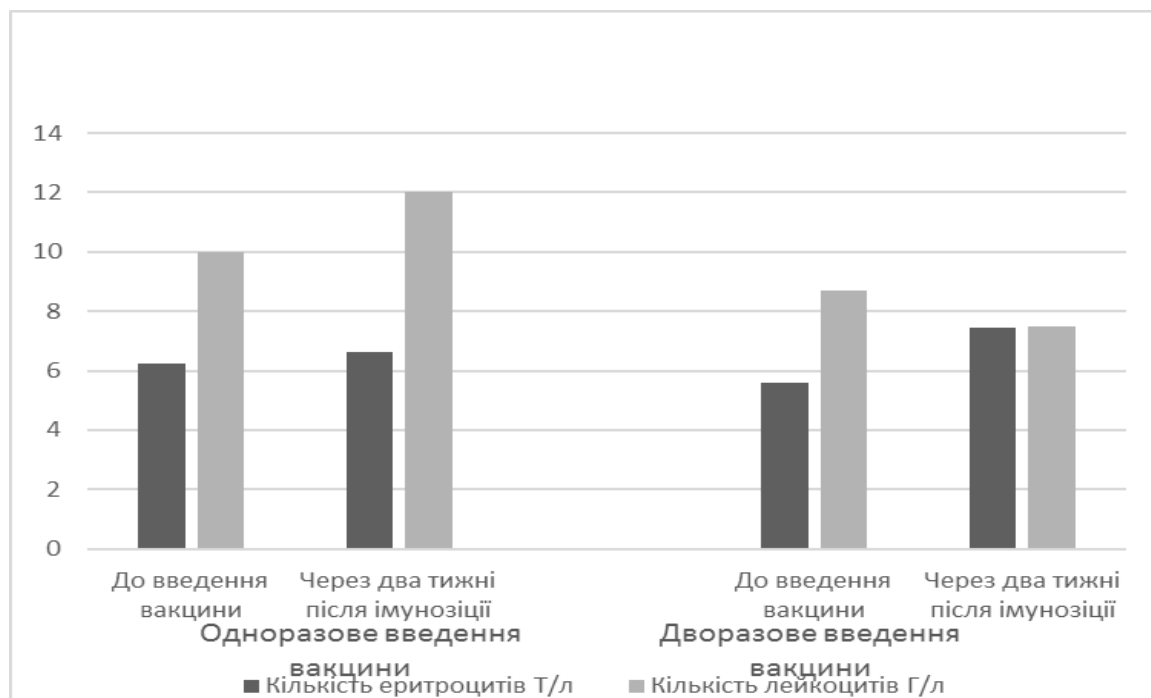
### РОЗДІЛ 3

#### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Вплив рівня сенсibilізації організму корів протисальмонельозною вакциною на показники крові та якість молока і молозива

##### 3.1.1. Морфологічні показники крові корів за різної схеми застосування протисальмонельозної комерційної вакцини

Проведеними дослідженнями встановлено, що не залежно від періоду досліджень (за один чи півтора місяці до отелення) та схеми сенсibilізації (одноразова чи дворазова) кількість еритроцитів та лейкоцитів у крові тільних корів не виходили за фізіологічні межі (рис. 3.1). Зокрема кількість еритроцитів у крові тільних корів на всіх етапах досліджень коливалась у межах 5,6–7,5 Т/л, а лейкоцитів відповідно – 7,5–12,0 Г/л.



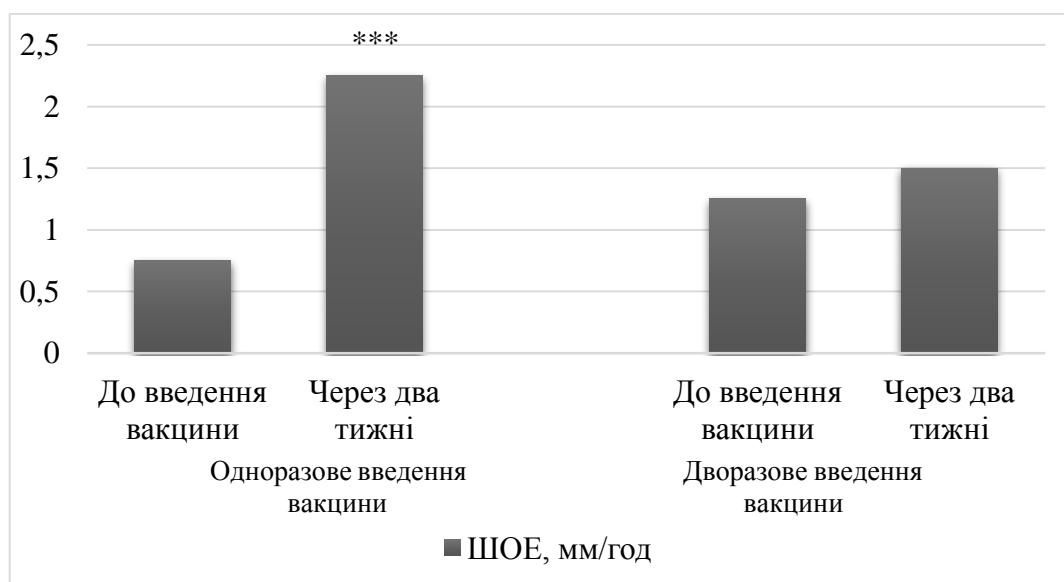
**Рис. 3.1. Кількість еритроцитів та лейкоцитів у крові тільних корів за різних схем введення вакцини ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Встановлені деякі відмінності у їхньому вмісті під час сенсibilізації тварин. Кількість еритроцитів за дворазового введення вакцини тваринам через 14 діб після другого введення вакцини зростала на 33,7 % ( $p < 0,01$ ), тоді, як у

корів після одноразового введення вакцини прослідковувалась лише тенденція щодо їх збільшення.

Після одноразового введення вакцини тільним коровам за місяць до отелення кількість лейкоцитів підвищується на 20 %, тоді, як після дворазового – показує тенденцію щодо зниження (на 13,8 %).

Встановлено достовірне зростання швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) у крові тільних корів через дві доби після одноразового введення вакцини у 3 рази ( $p < 0,001$ ), що у 2 рази вище фізіологічної норми (0,5–1,5 мм/год). Тоді, як дворазове введення вакцини тваринам достовірно не впливає на показник ШОЕ у їхній крові (рис. 3.2). Так, через два тижні після другого введення вакцини тільним коровам показник ШОЕ зростав лише на 20 %.



**Рис. 3.2. Швидкість осідання еритроцитів крові тільних корів за різних схем сенсibilізації (n=5)**

Примітка. Різниця достовірна за: \*\*\*  $p < 0,001$ .

Лейкоцитарна формула крові тільних корів незалежно від умов дослідження не виходила за фізіологічні межі із змінами, що характерні для поствакцинальної адаптації тварин (табл. 3.1.). Так, незалежно від того, проводили одноразове чи дворазове введення вакцини тільним коровам частка лімфоцитів зростала на 2,8–6 %, також у крові з'являлись моноцити, підвищувалась частка еозинофілів та паличкоядерних нейтрофілів. Натомість встановлено зниження частки сегментоядерних нейтрофілів на 1,4–4 % та базофілів на 2,1–2,3 %.

Таблиця 3.1

**Лейкоцитарна формула крові корів за різних схем сенсibilізації, %  
( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Період досліджень	Агранулоцити		Гранулоцити			
	Лімфоцити	Моноцити	Еозинофіли	Базофіли	Нейтрофіли	
					Сегментоядерні	Паличкоядерні
Одноразове введення вакцини						
До сенсibilізації	58,8±3,1	6,6±0,5	1,6±0,4	0,0±0,0	27,8±2,4	5,2±1,0
Через два тижні	64,8±2,3	4,3±0,9	2,0±0,5	0,2±0,2	23,8±1,3	5,8±0,6
Дворазове введення вакцини						
До сенсibilізації	64,2±1,8	6,5±0,5	1,8±0,4	0,0±0,0	21,6±2,3	5,8±0,8
Через два тижні після повторного введення вакцини	67,0±2,0	4,4±0,5*	2,0±0,3	0,4±0,2	20,2±1,5	6,2±0,8

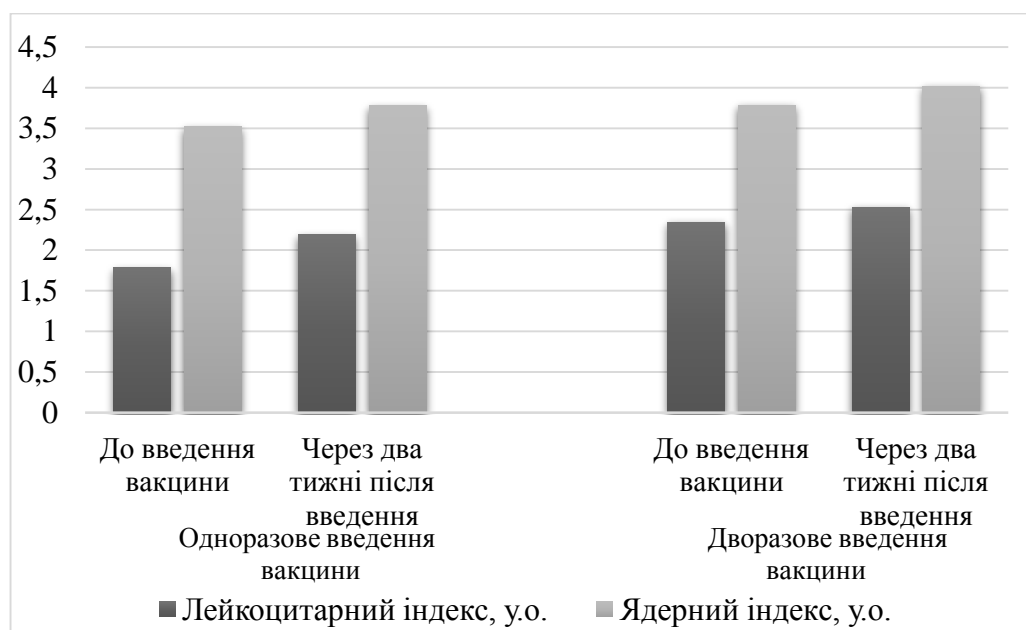
Примітка. Різниця достовірна за\*  $p < 0,05$ .

Не дивлячись на незначні зміни лейкограми тільних корів (достовірно знижувалась лише частка моноцитів у крові тільних корів) лейкоцитарні індекси після імунізації тварин зазнавали значних змін (рис. 3.3).

Відомо, що лейкоцитарний індекс (ЛІ) вказує на відношення кількості лейкоцитів до числа нейтрофілів крові та вказує на взаємовідношення гуморальної та клітинної ланки імунного захисту. Проведеними дослідженнями встановлено, що сенсibilізація тварин сприяє зсуву захисних систем організму у бік гуморальної його ланки. Так, ЛІ крові тільних корів після одноразового введення вакцини впродовж двох тижнів збільшується на 22,9 % ( $p < 0,05$ ), натомість у тварин яким сенсibilізацію проводили дворазовим введенням вакцини через два тижні після другого введення даний показник зростає лише на 8 %.

Ядерний індекс (ЯІ) Г. Д. Даштаянця характеризує швидкість відновлення та термін функціонування у кров'яному руслі нейтрофілів та моноцитів. Проведеними дослідженнями встановлено, що незалежно від схеми

сенсифілізації тварин показник ЯІ крові зростає на 6–8 %, однак це збільшення знаходиться у межах статистичної похибки.



**Рис. 3.3. Лейкоцитарний та ядерний індекси крові тільних корів за різних схем введення вакцини (n=5)**

Отже, встановлено достовірні зміни морфологічних показників крові корів за різних схем сенсифілізації. Одно- та дворазове введення вакцини тільним коровам за місяць до отелення сприяє активізації гуморальної ланки імунітету, що характеризується зростанням лейкоцитарного індексу та деякому перерозподілу різних класів лейкоцитів у крові. За два тижні після одноразового введення вакцини коровам істотно зростає ШОЕ та кількість лейкоцитів, натомість після дворазового введення дані показники достовірно не змінюються, а кількість еритроцитів тільки збільшується. Результати цього підрозділу були опубліковані у праці [172].

### **3.1.2. Біохімічні показники крові корів за різної схеми сенсифілізації**

Відомо, що сенсифілізація живого організму супроводжується перебудовою метаболізму із переорієнтацією в бік захисних систем. Проведеними дослідженнями встановлена істотна різниця в біохімічних показниках тварин за різних схем сенсифілізації (табл. 3.2.). Однак, слід

відмітити, що незважаючи на встановлену достовірну різницю у вмісті окремих метаболітів у сироватці крові, показники не виходили за межі норми враховуючи фізіологічний стан тільних корів.

Таблиця 3.2

**Біохімічні показники крові тільних корів за різних схем сенсibilізації  
( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Період досліджень	Показники				
	Загальний білок, г/л	Гемоглобін, г/л	Глюкоза, ммоль/л	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л
	Одноразове введення вакцини				
До сенсibilізації	80,7 $\pm$ 1,0	91,5 $\pm$ 2,6	2,9 $\pm$ 0,1	106,0 $\pm$ 5,4	6,0 $\pm$ 0,4
Через два тижні	78,6 $\pm$ 4,4	93,0 $\pm$ 7,8	2,0 $\pm$ 0,2**	92,0 $\pm$ 4,7*	6,5 $\pm$ 0,2
	Дворазове введення вакцини				
До сенсibilізації	80,6 $\pm$ 1,7	91,0 $\pm$ 1,9	2,4 $\pm$ 0,1	106,5 $\pm$ 4,0	6,1 $\pm$ 0,3
Через два тижні після повторного введення вакцини	79,8 $\pm$ 1,6	102,0 $\pm$ 3,6*	2,0 $\pm$ 0,1*	86,5 $\pm$ 4,67**	6,9 $\pm$ 0,4

Примітка. Різниця достовірна за\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ .

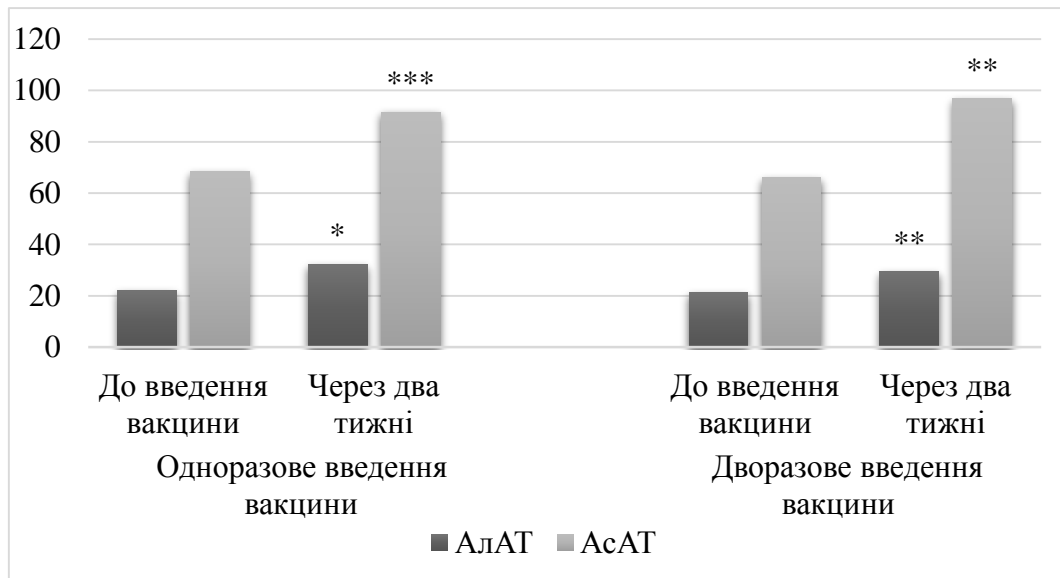
Незалежно від схеми сенсibilізації встановлено зниження інтенсивності білкового обміну у організмі тільних корів, що впливає із зниження вмісту загального білка у сироватці крові за два тижні після введення вакцини на 2–3 % та вмісту креатиніну на 13–19 % ( $p < 0,05$ – $0,01$ ). А одночасне підвищення вмісту сечовини у сироватці крові тварин на 9–13 % (хоча і у межах тенденції) вказує на підвищення катаболізму білка в організмі цих тварин.

Поряд із збільшенням кількості еритроцитів у тільних корів через два тижні після повторного введення вакцини встановлено зростання вмісту гемоглобіну на 13 % ( $p < 0,05$ ). Натомість одноразове введення вакцини достовірно не впливає на вміст гемоглобіну у крові тварин.

Проведеними дослідженнями встановлено, що незалежно від схеми сенсibilізації через два тижні після введення вакцини тільним коровам вміст глюкози у крові достовірно знижується. Так, у сироватці крові тварин, яким

вводили вакцину одноразово вміст глюкози знижується на 28 % ( $p<0,01$ ), тоді, як у тільних корів яким вакцину вводили дворазово – на 17 % ( $p<0,05$ ).

Результати досліджень активності трансаміназ у сироватці крові тільних корів наведені на рисунку 3.4. Встановлено, що залежно від схеми введення вакцини впродовж двох тижнів активність АлАТ та АсАТ зростає на 34–47 % ( $p<0,05$ – $0,001$ ).



**Рис. 3.4. Активність амінотрансфераз у сироватці крові корів за різних схем сенсibilізації, Од/л (n=5)**

Примітка. Різниця достовірна за: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$ .

Слід відмітити, що, якщо через два тижні після одноразового введення вакцини тваринам у більшій мірі зростає активність АлАТ (на 46,6 %;  $p<0,001$ ), ніж АсАТ (підвищується на 33,6 %  $p<0,05$ ), то у тварин яким вакцину вводили дворазово – навпаки, активність АсАТ значно підвищується. Якщо активність АлАТ у сироватці крові тільних корів не виходила за фізіологічні межі після сенсibilізації, то активність АсАТ була вище допустимих норм, що свідчить про деструктивні процеси у гепатоцитах тварин.

Як свідчать дані із таблиці 3.3, вміст окремих мікроелементів у сироватці крові тільних корів за різних схем сенсibilізації достовірно не змінюється. Слід лише відмітити недостовірне зниження вмісту Кальцію (на 5–9 %) та Фосфору (на 2–3 %) і збільшення вмісту Калію (на 2–5 %) у сироватці крові тільних корів через два тижні після введення вакцини, незалежно від схеми сенсibilізації.

Таблиця 3.3

**Вміст окремих мікроелементів у сироватці крові тільних корів за різних схем сенсibilізації ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Період досліджень	Показники			
	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Калій, ммоль/л	Натрій, ммоль/л
<b>Одноразове введення вакцини</b>				
До сенсibilізації	2,14±0,06	2,03±0,03	4,05±0,13	141±1,29
Через два тижні	1,94±0,11	1,99±0,06	4,25±0,13	142±1,83
<b>Дворазове введення вакцини</b>				
До сенсibilізації	2,15±0,04	1,94±0,04	4,03±0,06	141±1,29
Через два тижні після повторного введення вакцини	2,05±0,04	1,89±0,07	4,13±0,05	140±0,82

Таким чином, сенсibilізація тварин супроводжується змінами метаболізму, що залежать від схеми введення вакцини. Встановлено зростання рівня деструктивних процесів у організмі тільних корів після сенсibilізації, що супроводжуються зниженням інтенсивності обміну білка та вмісту глюкози у крові, зростанням вмісту кінцевих продуктів його обміну (сечовини), що свідчить про інтенсифікацію катаболізму білків. Однак вміст окремих мікроелементів у крові тільних корів після сенсibilізації достовірно не змінюється. Результати цього підрозділу були опубліковані у праці [105].

### **3.2 Розробка методу виділення трансфер-фактора з лімфоцитів молозива корів**

У процесі розробки оптимального методу виділення трансфер-фактора з лімфоцитів молозива корів було: вдосконалено методику виділення і підрахунку клітин молозива; підбрано оптимальний метод виділення суспензії лімфоцитів; досліджено активність діалізного екстракту лімфоцитів; визначено амінокислотний склад діалізного екстракту лімфоцитів; доведено міжвидову активність отриманого трансфер-фактора.



### 3.2.1 Розробка та апробація методу виділення і підрахунку клітин молозива та якісні показники молозива і молока

На наступному етапі наших досліджень нами було розроблено новий метод виділення та підрахунку клітин молозива, що значно спрощує виділення клітин молозива і включає наступні операції:

1. відбір молозива у корів та його стабілізація;
2. виділення суспензії клітин;
3. підрахунок кількості клітин.

**Відбір молозива у корів та його стабілізація.** Проби молозива від корів відбирали не пізніше, ніж 72 години після отелення в стерильні ємності по 100 мл у кожному. Одразу до проб молозива додавали запропонований нами розчин для розведення і стабілізації у співвідношенні 1:3. Даний розчин попередньо був охолоджений ( $t=4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Розчин для стабілізації проб молозива створено на базі розчину Хенкса, фосфатного буферу ( $\text{pH}=7,4$ ) з додаванням антибіотиків (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Склад розчину для розведення і стабілізації проб молозива**

Базові складові	Інгредієнт	Кількість
Складові розчину Хенкса	Натрію хлорид	8,00 г
	Калію хлорид	0,40 г
	Кальцію хлорид 6-водний	0,14 г
	Магній сірчаноокислий 7-водний	0,10 г
	Натрій фосфорнокислий двозаміщений 12-водний	0,06 г
	Калій фосфорнокислий однозаміщений	0,06 г
	Магній хлористий 6-водний	0,10 г
	D-глюкоза	1,00 г
	Натрію гідрокарбонат	0,35 г
Складові фосфатного буфера	Гідрофосфат натрію	9,71 г
	Дигідрофосфат калію	1,65 г
Антибіотик	Пеніцилін	250 тис. од.
	Стрептоміцин	0,25 г
Розчинник	Ізотонічний розчин	до 1 л

Запропонований нами розчин для розведення і стабілізації проб молозива виявився значно ефективнішим, ніж класичний метод розведення молозива із застосування розчину Хенкса.

Так, за використання запропонованого нами розчинника кількість життєздатних імунокомпетентних клітин у зразках збільшувалась у середньому на 13,0 % ( $p < 0,001$ ) (табл. 3.5).

Після розведення проб молозива не пізніше, ніж за дві години їх доставляли (у холодильнику за температури 4°C) у лабораторію для виділення суспензії клітин.

Таблиця 3.5

**Порівняльна ефективність запропонованого розчину для розведення і стабілізації проб молозива**

№ зразка	Кількість життєздатних клітин у зразку, %		
	З використанням розчину Хенкса	З використанням запропонованого розчину	Різниця, %
1	72	86	+14
2	70	85	+15
3	65	88	+23
4	78	83	+5
5	74	82	+8
Середнє	71,8±2,4	84,8±1,2***	+13±3,4

Примітка. Достовірні різниці за \*\*\*  $p < 0,001$ .

**Якісні показники молока і молозива корів.** За фізико-хімічним складом молозиво (так, як і молоко) від корів, сенсibilізацію яких проводили за різними схемами, достовірно не різнилось, тому для більш наглядної оцінки їх показники об'єднано у одну групу. У таблиці 3.6 представлені деякі фізико-хімічні показники відібраного молозива і молока від тварин дослідних груп.

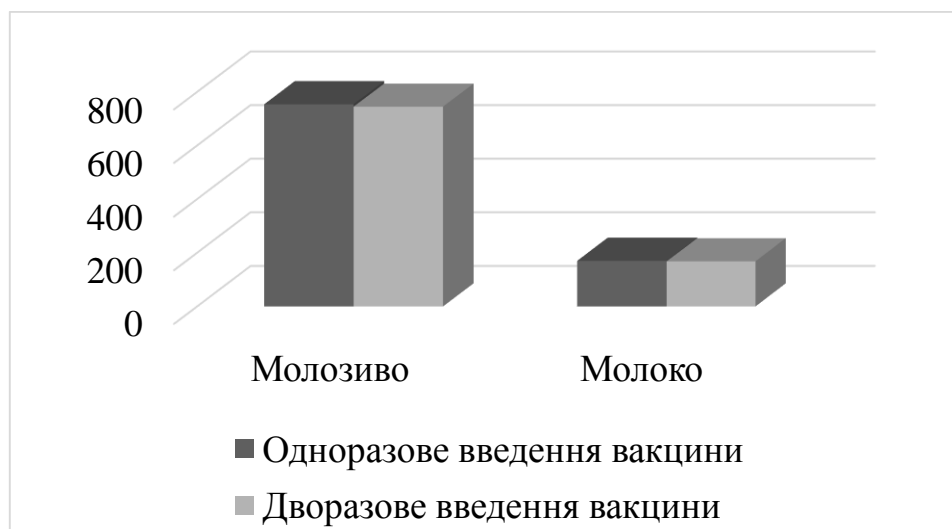
Таблиця 3.6

**Фізико-хімічні показники молока і молозива корів ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )**

Показник	Молозиво	Молоко
Білок, %	12,7±0,89	3,1±0,06
Жир, %	6,8±0,12	4,0±0,09
Густина, г/см <sup>3</sup>	1,047±0,002	1,032±0,002
Кислотність, °Т	41,0±0,66	18,0±0,53

Як свідчать представлені у таблиці дані, молозиво містить у 4,1 рази ( $p<0,001$ ) більше білку та у 1,7 рази ( $p<0,001$ ) більше жиру, внаслідок чого у нього значно більша густина –  $1,047\pm0,002$  г/см<sup>3</sup>, попри  $1,032\pm0,002$  г/см<sup>3</sup> у молока. Слід також відзначити, що кислотність молозива у 2,3 рази ( $p<0,001$ ) вище відповідно до такої у молока.

На рисунку 3.5 представлені результати визначення кількості клітин у молоці та молозиві корів. Клітинний склад молозива і молока був аналогічним, проте мала місце суттєва різниця у їхній кількості. Як видно із рисунку, кількість клітин у молозиві корів у 4,4 рази ( $p<0,001$ ) вище відповідно до такої у молоці. Кількість клітин у молозиві досліджуваних проб коливалась у межах 540–2800 тис/см<sup>3</sup>, а у молоці лактуючих корів – 150–250 тис/см<sup>3</sup>.



**Рис. 3.5. Кількість клітин у молозиві та молоці корів, тис/см<sup>3</sup> (n=7)**

У досліджуваних мазках молозива і молока були виявлені лімфоцити, нейтрофіли, еозинофіли, епітеліальні клітини та макрофаги. У пробах молозива найбільше було лейкоцитів – 45–55 %, кількість епітеліальних клітин коливалась в межах 35–45 %. Натомість у пробах молока кількість епітеліальних клітин сягала 60–70 %, а лейкоцитів лише 25–35 %.

Отже, попри істотні відмінності у фізико-хімічних показниках, молозиво корів містить значно більше лейкоцитів, ніж молоко, що обумовлює доцільність його використання у процесі отримання трансфер-фактора клітинного імунітету. Результати цього підрозділу були опубліковані у праці [167].

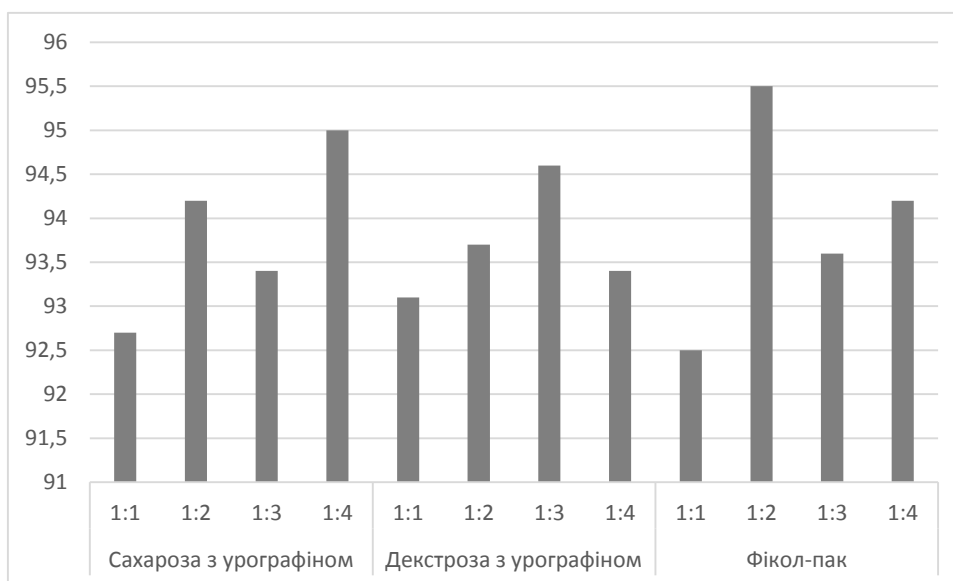
### 3.2.2. Вибір оптимального методу виділення суспензії лімфоцитів

Після знежирення отриманих проб молозива та молока шляхом центрифугування проводили коагуляцію казеїну з найменшими втратами сироваткових білків, що була підібрана нами експериментально.

Для виділення клітин молозиво центрифугували впродовж 50 хвилин за 400 g. Після центрифугування обережно знімали верхній жировий прошарок, відбирали надосадову рідину, а осад клітин ресуспендували в розчині Хенкса.

Виділення лімфоцитарної суспензії здійснювали шляхом центрифугування на роздільному середовищі, яке було підібрано експериментально. У якості роздільного середовища більш ефективним виявився розчин сахарози з урографіном, що і використовувався у подальшому.

Гомогенність клітинної суспензії має надзвичайно важливе значення для отримання активного трансфер-фактора із сенсibilізованих лімфоцитів. Тому, нами проведено дослідження використання різних середовищ для розділення клітин. Виділення лімфоцитарної суспензії здійснювали шляхом центрифугування на роздільному середовищі, в якості якого використовували розчин сахарози з урографіном, декстрази з урографіном та Фікол-пак. Результати проведених досліджень наведені на рис. 3.6.



**Рис. 3.6. Ефективність використання різних роздільних середовищ для виділення суспензії лімфоцитів (n=5)**

Проведені дослідження показали, що застосуванні роздільних середовищ Фікол-пак, сахарози та дексторози з урографіном дозволяє отримати суспензію із вмістом лімфоцитів від 92,5 до 95,5 % . При чому, незалежно від вибраного середовища із збільшенням кількості клітин по відношенню до суспензії знижується кількість виділених лімфоцитів (на 17–32 %), однак, зростає процентний вміст лімфоцитів у суспензії (на 0,3–1,7 %).

Встановлено, що під час виділення з молозива корів суспензії лімфоцитів оптимальним є використання розчинів сахарози з урографіном (1:04), що дозволяє отримати  $95,0 \pm 2,0$  % лімфоцитів та розчину Фікол-пак (1:02) –  $95,5 \pm 2,3$  % лімфоцитів. Слід відмітити, що різниці у виділенні лейкоцитів між цими середовищами були у межах статистичної похибки. Отже, в процесі отримання суспензії лімфоцитів велику роль відіграє гомогенність клітинної суспензії. Для виділення суспензії з молозива у якості роздільних розчинів слід використовувати розчин сахарози з урографіном або розчин Фікол-пак. Однак, з огляду на високу вартість Фікол-пак використання сахарози з урографіном представляється більш перспективним.

**Підрахунок кількості клітин.** Для визначення оптимальної методики підрахунку кількості клітин у зразках суспензії було проведено ряд експериментів. Матеріалом для досліджень була кількість клітин суспензії лімфоцитів отримана за використання різних методик їхнього підрахунку у однакових зразках. Усього в порівняльному аспекті використовували чотири базові методи підрахунку кількості клітин та методику розроблену співробітниками кафедри (Козловська Г. В., Скибіцький В. Г., Постой В. В.).

Отже запропонований нами метод включає: у пластикові мікропланшети (5 шт) з плоскодонними лунками вносимо 0,01 мл суспензії клітин рівномірно розподіляючи за допомогою піпетки. Після просушування препарат фіксуємо 96 % спиртом та фарбуємо метиленовим синім. Пофарбовані препарати промиваємо і висушуємо. Підрахунок клітин проводим з імерсійним об'єктивом

не менше, ніж у 10 полях зору в кожній лунці. Кількість клітин, що містяться в 1 мл суспензії, обчислювали за формулою:

$$M = A * S / V * s \quad (3.1)$$

де М – кількість клітин в 1 мл; А – середнє число клітин в полі зору; s і S – площа поля зору і дна лунки в мкм<sup>2</sup>, відповідно; V – об'єм внесеної в лунку суспензії у мл. Отримані дані з підрахунку у 5 лунках обраховуємо статистично.

Для апробування даної методики підрахунку клітин суспензії лімфоцитів було проведено експеримент на п'яти пробах попередньо виділеної суспензії клітин. З кожної проби суспензії паралельно робили п'ять повторень визначення кількості клітин вищезгаданими методами. Для встановлення оптимальної кількості підрахунку полів зору у кожній з п'яти лунок розробленої нами методики було проведено підрахунок у 50, 20, 10 та 5 полів зору кожної з 5 лунок. Результати проведених випробувань наведено у таблиці 3.7.

Проведене випробування показало, що результат визначення кількості клітин у суспензії лейкоцитів з молозива методикою Пріскотта-Бріда у одному з п'яти експериментів достовірно відрізнялось від отриманих значень за методом Виноградського-Шульгіна-Пріскотта-Бріда ( $p < 0,05$ ).

Найменш точною методикою підрахунку кількості клітин молозива є підрахунок на сітці лічильної камери Горяєва. Зокрема, у трьох з п'яти проб кількість клітин достовірно відрізнялась від такої за застосування методу Виноградського-Шульгіна-Пріскотта-Бріда ( $p < 0,001$ ). Причому, у всіх за визначення усіх п'яти зразків відхилення від середнього арифметичного за підрахунку даною методикою було найбільше, що визначає найменший рівень вірогідності даного методу.

Кількість лейкоцитів у заданих пробах суспензії за застосування розробленої нами методики підрахунку за визначення як у 50, 20 так і у 10 полях зору в кожній лунці достовірно не відрізнялась від отриманих значень за використання методики Виноградського-Шульгіна-Пріскотта-Бріда. Однак, за підрахунку у 5 полях зору в трьох зразках була відмінною ( $p < 0,05-0,001$ ) від такої за використання стандартної методики.

Таблиця 3.7

**Ефективність використання різних методик підрахунку клітин у суспензії  
лімфоцитів (лімфоцитів, Г/л)**

Повторення	Методика підрахунку кількості клітин						
	Виноградського-Шульгіна-Пріскогга-Бріда (100 полів зору)	Пескогга-Бріда	на сітці лічильної камери Горяєва	Рациональна (розроблена нами) методика з підрахунком у 5 лунках за різної кількості полів зору			
				50	20	10	5
Перша проба суспензії							
1	4,05	4,17	4,05	4,06	4,11	4,11	4,08
2	3,95	4,1	4,17	4,03	4,12	4,01	4,32
3	3,98	3,99	4,29	3,96	4,15	4,03	4,21
4	3,97	4,18	4,31	4,03	3,97	3,9	4,15
5	4,04	4,18	4,18	4,07	4,00	4,14	4,16
<b>М±</b>	4,0±0,02	4,12±0,04	4,2±0,05**	4,03±0,	4,07±0,0	4,04±0,05	4,18±0,1
Друга проба суспензії							
1	3,29	3,28	3,16	3,34	3,25	3,18	3,13
2	3,28	3,38	2,4	3,35	3,35	3,15	3,34
3	3,29	3,32	3,11	3,33	3,35	3,32	3,47
4	3,32	3,32	3,07	3,33	3,26	3,34	2,78
5	3,35	3,32	3,14	3,31	3,25	3,33	3,39
<b>М±</b>	3,31±0,01	3,32±0,02	2,98±0,16*	3,33±0,	3,29±0,0	3,26±0,05	3,22±0,1
Третя проба суспензії							
1	3,97	3,92	3,73	3,95	3,98	3,79	3,15
2	3,93	3,77	3,76	3,86	3,91	3,82	3,57
3	3,96	3,92	3,96	3,89	3,86	3,94	3,68
4	3,89	3,9	3,77	3,83	3,82	3,9	3,1
5	3,91	3,9	3,95	3,82	3,87	3,86	3,79
<b>М±</b>	3,93±0,02	3,88±0,03	3,83±0,06	3,87±0,	3,89±0,0	3,86±0,03	3,46±0,1
Четверта проба суспензії							
1	4,37	4,4	4,4	4,32	4,29	4,43	4,44
2	4,3	4,32	4,94	4,34	4,35	4,35	4,28
3	4,32	4,32	4,2	4,26	4,34	4,3	3,22
4	4,3	4,23	4,25	4,35	4,34	4,32	4,19
5	4,37	4,21	4,98	4,42	4,4	4,38	4,18
<b>М±</b>	4,33±0,02	4,30±0,04	4,55±0,19	4,34±0,	4,34±0,0	4,36±0,03	4,06±0,2
П'ята проба суспензії							
1	4,12	4,1	4,26	4,14	4,24	4,2	3,97
2	4,1	4,02	4,45	4,04	4,17	4,18	3,96
3	4,14	4,1	4,36	4,05	4,16	4,03	3,75
4	4,15	4,25	4,56	4,14	4,21	4,17	4,04
5	4,23	4,12	4,38	4,13	4,1	4,26	4,16
<b>М±</b>	4,15±0,02	4,12±0,04	4,4±0,06**	4,1±0,0	4,18±0,0	4,17±0,04	3,98±0,0

Примітка. Достовірні різниці з отриманою кількістю клітин за застосування методу Виноградського-Шульгіна-Пріскотта-Бріда: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

Зважаючи на отримані результати оптимальним для підрахунку кількості клітин суспензії лейкоцитів є запропонована нами методика із використанням підрахунку клітин у 10 полях зору в кожній з п'яти лунок.

Узагальнюючи отримані результати слід відмітити, що запропонована нами методика підрахунку клітин дозволяє за значно менший період часу достовірно встановити кількість клітин у дослідному зразку субстрату лейкоцитів.

Отже, у процесі отримання трансфер-фактора із сенсibilізованих лімфоцитів велику роль відіграє гомогенність клітинної суспензії. Для виділення суспензії лімфоцитів з молозива у якості роздільних розчинів слід використовувати розчин сахарози з урографіном або розчин Фікол-пак. Однак, з огляду на високу вартість Фікол-пак використання сахарози з урографіном представляється більш перспективним. Результати цього підрозділу були опубліковані у праці [168].

### **3.2.3. Аналіз активності діалізного екстракту лімфоцитів та його амінокислотний склад**

*Аналіз активності діалізного екстракту лімфоцитів.* Після встановлення оптимального способу виділення суспензії лімфоцитів з молозива для отримання трансфер-фактора з лімфоцитів молозива суспензію лімфоцитів руйнували десятиразовим заморожуванням-розморожуванням ( $-20^{\circ}\text{C} \dots +37^{\circ}\text{C}$ ). Потім після центрифугування (400 g/10 хв) надосадову рідину піддавали діалізу (24 годин за  $4^{\circ}\text{C}$  на магнітній мішалці). Діалізовані зразки перевіряли на активність у реакції інгібіції міграції лейкоцитів (РІМЛ). Реакція інгібіції міграції лейкоцитів свідчить про здатність отриманого трансфер-фактора сенсibilізувати клітини до певного антигену. Результати реакції інгібіції міграції лейкоцитів, оброблених досліджуваними зразками трансфер-фактора, який було отримано з молозива сенсibilізованих до збудника сальмонельозу корів наведені у таблиці 3.8. Як свідчать результати досліджень, маса



спроєктованих зон міграції у контрольних пробах без антигену до *S. dublin* становила  $18,0 \pm 0,82$  мг, а індекс міграції складає 100 %.

За обробки тест-клітин нерозведеними зразками відмічено пригнічення міграції лейкоцитів при контакті із антигеном до *S. dublin*. Причому, різниця маси спроєктованих зон міграції дослідних проб порівняно до аналогічних показників контролю була вірогідною і становила  $8,02 \pm 0,77$  мг ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 3.8

**Результати реакції інгібіції міграції лейкоцитів за використання різних розведень трансфер-фактора ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

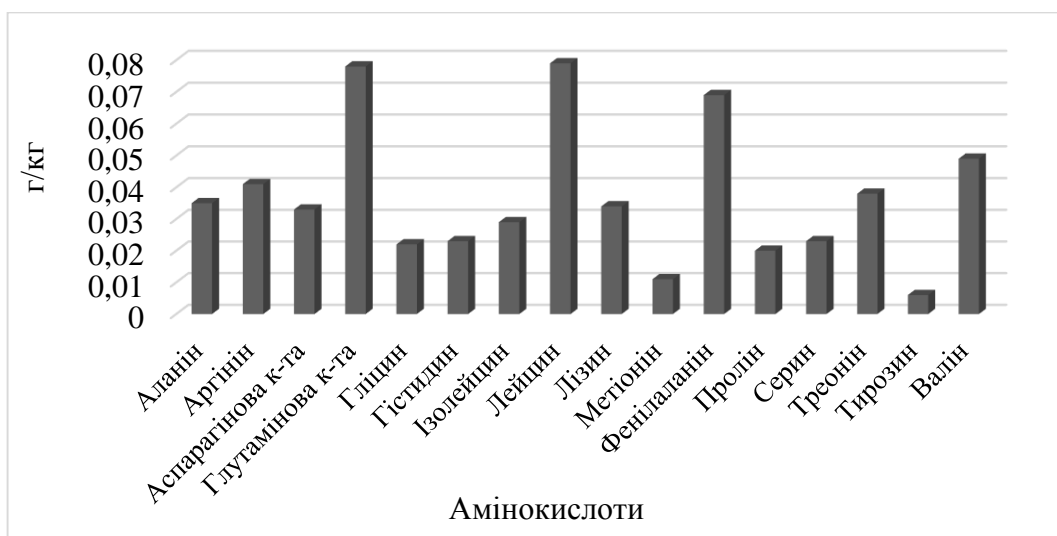
Розведення	Робочий антиген			
	<i>S. dublin</i>		<i>E. coli</i>	
	Маса зон міграції тест-клітин, мг	Індекс міграції, %	Маса зон міграції тест-клітин, мг	Індекс міграції, %
Не розведений	$8,02 \pm 0,77$	$44,56 \pm 4,27$	$17,92 \pm 0,72$	$92,83 \pm 3,71$
1:1	$9,10 \pm 1,18$	$50,56 \pm 6,54$	$17,81 \pm 0,4$	$92,28 \pm 2,05$
1:2	$10,92 \pm 0,96$	$60,67 \pm 5,31$	$19,22 \pm 0,32$	$99,59 \pm 1,65$
1:4	$12,04 \pm 1,32$	$66,89 \pm 7,32$	$18,7 \pm 0,25$	$96,89 \pm 1,30$
1:8	$13,26 \pm 0,72$	$73,67 \pm 4,00$	$19,2 \pm 0,49$	$99,48 \pm 2,53$
1:16	$16,46 \pm 0,67$	$91,44 \pm 3,70$	$18,26 \pm 0,53$	$94,61 \pm 2,72$
1:32	$17,24 \pm 0,28$	$95,78 \pm 1,58$	$19,56 \pm 0,43$	$101,35 \pm 2,24$
Контроль (без антигену)	$18,0 \pm 0,82$	$100 \pm 0,00$	$19,3 \pm 0,44$	$100 \pm 0,00$

Розведення препарату трансфер-фактора супроводжується поступовим зменшенням рівня пригнічення міграції лейкоцитів при контакті із антигеном до *S. dublin*. Так, за розведення трансфер-фактора 1:1 маса зони міграції становила  $9,10 \pm 1,18$  мг, за розведення 1:2 –  $10,92 \pm 0,96$  мг, за розведення 1:4 –  $12,04 \pm 1,32$  мг та за розведення 1:8 –  $13,26 \pm 0,72$  мг. Слід відмітити, що індекс міграції лейкоцитів хоча і зменшується з показника  $44,56 \pm 4,27$  % у нерозведеному зразку до показників  $50,56 \pm 6,54$  %,  $60,67 \pm 5,31$  %,  $66,89 \pm 7,32$  % та  $73,67 \pm 4,00$  % відповідно у розведеннях 1:1, 1:2, 1:4 та 1:8, однак залишається достовірний ( $p < 0,001$ ). Подальші розведення досліджуваних зразків трансфер-фактора достовірного пригнічення міграції тест-клітин не проявляли, так індекс міграції лейкоцитів у пробах з розведенням 1:16 та 1:32 становив відповідно  $91,44 \pm 3,70$  % та  $95,78 \pm 1,58$  %, що перевищує порогові 80 % і є недостовірним.

За тестування трансфер-фактора який було отримано з молозива сенсibilізованих до збудника сальмонельозу корів достовірного пригнічення міграції лейкоцитів при контакті із антигеном до *E. Coli* незалежно від ступеня розведення встановлено не було.

Отже, отримані зразки трансфер-фактора є специфічні щодо збудника сальмонельозу (*Salmonella dublin*) і викликають інгібіцію міграції лейкоцитів, що свідчить про здатність сенсibilізувати клітини до даного антигену.

**Амінокислотний склад діалізного екстракту лейкоцитів.** Проведений амінокислотний аналіз отриманих зразків ДЕЛ (рис. 3.7) свідчить, що з 16 виявлених амінокислот найбільший вміст у екстракті глютамінової кислоти – 13,2 %, лейцину – 13,4 % та фенілаланіну – 11,7 % від загального вмісту усіх амінокислот. Проміжне місце в амінокислотному складі мають такі амінокислоти, як аланін (5,9 %), аргінін (6,9 %), аспарагінова кислота (5,6 %), лізин (5,8 %), треонін (6,4 %) та валін (8,3 %). І найменше виявлено таких амінокислот як гліцин (3,7 %), гістидин (3,9 %), ізолейцин (4,9 %), метіонін (1,9 %), пролін (3,4 %), серин (3,9 %) та тирозин (1,0 %).



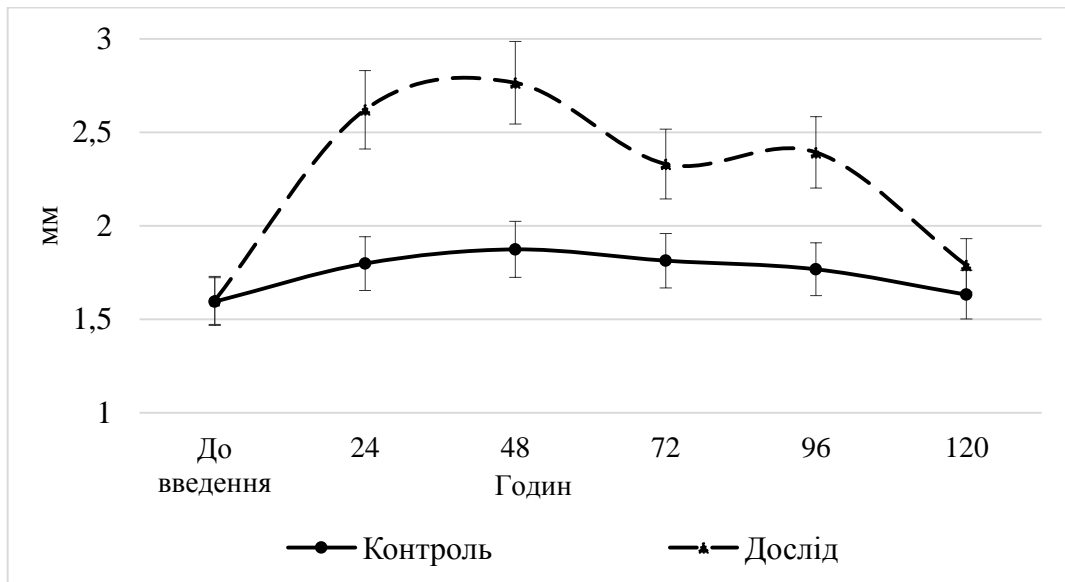
**Рис. 3.7. Фактичний вміст амінокислот (на натуральну вологу) в діалізному екстракті лейкоцитів, г/кг (n=5)**

Таким чином, аналіз отриманих нами результатів амінокислотного складу діалізного екстракту лейкоцитів свідчить, що майже половину за загальним вмістом (46,6 %) від усіх виявлених амінокислот складають глютамінова кислота, лейцин, фенілаланін та валін. Результати цього підрозділу були опубліковані у праці [166].

### 3.2.4. Міжвидова активність отриманого трансфер-фактора

Основною характеристикою препаратів трансфер-фактора є їх властивість переносити реакції гіперчутливості сповільненого типу від імунних донорів інтактним реципієнтам. Дослідження властивості трансфер-фактора переносити стан сенсibilізації здійснювали за допомогою шкірної проби та реакції інгібіції міграції лейкоцитів.

За моделювання реакції ГСТ у інтактних реципієнтів (білі миші) за допомогою трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива, встановлено, що перед введенням препарату товщина шкірної складки була у межах 1,5–1,7 мм (рис. 3.8).



**Рис. 3.8. Товщина шкірної складки лабораторних мишей, сенсibilізованих трансфер-фактором, з лімфоцитів молозива у відповідь на введення алергену, мм (n=5)**

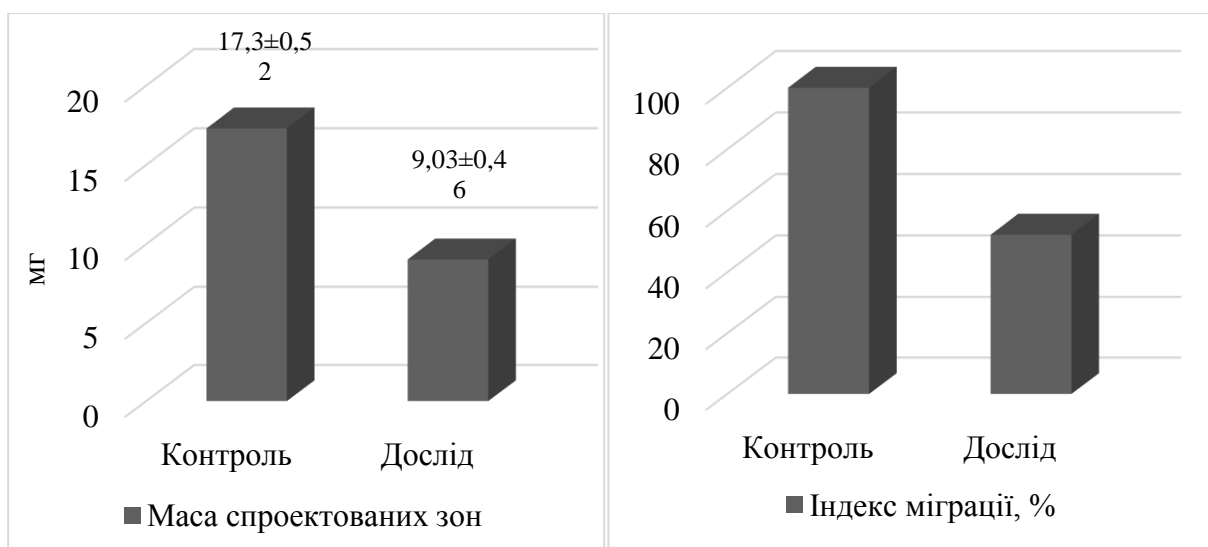
Проведеними дослідженнями встановлено, що товщина шкірної складки лабораторних мишей, сенсibilізованих трансфер-фактором, отриманим із лімфоцитів молозива неімунізованих корів (контрольна група тварин) у відповідь на введення алергену впродовж доби збільшується на 12,8 % ( $p < 0,05$ ) до показника –  $1,8 \pm 0,06$  мм, що характерно для місцевої запальної реакції у відповідь на введення препарату. Впродовж наступних 24 годин товщина шкірної складки незначно зростає (на 4,2 %), а надалі поступово знижується.

Через 120 годин після введення мишам антигену товщина шкірної складки перестає відрізнятися від такої до введення антигену і становить – 1,63 мм.

Товщина шкірної складки лабораторних мишей, сенсibilізованих трансфер-фактором, отриманим із лімфоцитів молозива імунізованих до збудника сальмонельозу корів (дослідна група тварин) у відповідь на введення алергену впродовж доби збільшується у 1,64 раза ( $p < 0,001$ ) до показника  $2,62 \pm 0,126$  мм, що вище на 45,8 % ( $p < 0,001$ ) від показника тварин контрольної групи. Максимальної товщини шкірної складки у мишей спостерігалась через 48 годин після введення алергену і становила  $2,76 \pm 0,10$  мм, що перевищувало показники до алергопроби та дані контролю у 1,5–1,7 раза ( $p < 0,001$ ). Впродовж наступних 24 годин товщина шкірної складки дещо знижується (на 15,7 %), однак залишається достовірно вище на 28,5 % ( $p < 0,001$ ) від показників тварин контрольної групи. Навіть через 120 годин після введення мишам антигену товщина шкірної складки дещо відрізняється від такої до введення антигену (вище на 11,7 %) і становить  $1,79 \pm 0,04$  мм.

Таким чином, отримані зразки трансфер-фактора виявилися активними щодо міжвидового переносу гіперчутливості сповільненого типу до збудника сальмонельозу. Найвиразніша шкірна реакція у лабораторних мишей спостерігається через 48 годин після введення алергену.

Вивчення перенесення стану сенсibilізації інтактним реципієнтам продовжили постановкою реакції інгібіції міграції лейкоцитів, оброблених досліджуваними зразками трансфер-фактора. Для сенсibilізації лейкоцитів інтактних мишей використовували зразки трансфер-фактора отриманого із молозива імунізованих (дворазова імунізація) та неімунізованих щодо збудника сальмонельозу корів. Результати проведених досліджень наведені на рис. 3.9. Маса спроектованих зон міграції у контрольних пробах без антигену становила  $17,3 \pm 0,52$  мг, відповідно індекс міграції становив 100 %.



**Рис. 3.9. Вплив введення трансфер-фактора на міграцію лейкоцитів мишей ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Результати отримані при обробленні тест-клітин нерозведеними зразками трансфер-фактора вказують на пригнічення міграції лейкоцитів під час контакту із сальмонельозним антигеном. Різниця маси спроекованих зон міграції дослідних проб порівняно до аналогічних показників контролю була достовірною ( $p < 0,001$ ) і становила 8,27 мг, внаслідок чого індекс міграції сягав показника 52,2 %.

Отже, результати реакції ІМЛ та шкірної проби свідчать про можливість передачі *in vitro* імунокомпетентним клітинам стану сенсibilізації до збудника сальмонельозу за допомогою антигеноспецифічного трансфер-фактора. Результати цього підрозділу були опубліковані у праці [169].

### **3.3. Вплив застосування трансфер-фактора на резистентність телят**

#### **3.3.1. Вплив трансфер-фактора на вміст лейкоцитів у крові телят та лейкограму крові телят**

*Вплив трансфер-фактора на вміст лейкоцитів у крові телят.* Проведеними дослідженнями встановлено, що кількість лейкоцитів у крові новонароджених телят дослідних груп достовірно не відрізнялась і становила 9,1–9,2 Г/л, що є нормою для цих тварин (табл. 3.9). У телят контрольної групи впродовж першого тижня життя кількість лейкоцитів у крові знижується на

24,9 % ( $p<0,001$ ), що очевидно є проявом постнатального адаптаційного синдрому. Слід відмітити, що із 7 до 14 доби життя тварин даний показник зростає на 15 % ( $p<0,01$ ). Із 14 до 21 доби життя встановлена лише тенденція щодо збільшення кількості лейкоцитів у крові телят.

Таблиця 3.9

**Кількість лейкоцитів у крові телят за застосування трансфер-фактора, Г/л  
( $M\pm m$ ,  $n=5$ )**

Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	9,22±0,64	6,92±0,38	7,96±0,22	8,14±0,33
I дослідна	9,10±0,59	7,82±0,32*	7,94±0,14	8,34±0,40
II дослідна	9,14±0,36	7,97±0,36**	8,04±0,23	8,38±0,36

Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ .

Задавання телятам трансфер-фактора виділеного із молозива несенсибілізованих корів мало достовірний вплив на динаміку кількості лейкоцитів у їхній крові. Так, від народження до 7-добового віку кількість лейкоцитів знижується лише на 14,1 % ( $p<0,05$ ) і стає вище на 13 % ( $p<0,05$ ) від такої у тварин дослідної групи. Із 7 до 14 доби життя телят кількість лейкоцитів підвищується лише на 1,5 % та перестає достовірно різнитись із показником тварин контрольної групи. Надалі до 21 доби життя даний показник зростає ще на 5 %, однак, вище від такого у тварин контрольної групи лише у межах тенденції.

Задавання трансфер-фактора, виділеного із молозива сенсибілізованих корів сприяло зниженню кількості лейкоцитів у їхній крові до 7-добового віку лише на 12,8 % ( $p<0,05$ ). Саме тому в цей період у телят II дослідної групи кількість лейкоцитів вище на 15,2 ( $p<0,01$ ) та 1,9 % відповідно до такої у тварин контрольної та I дослідних груп. Із 7 до 14 доби життя даний показник у тварин II дослідної групи достовірно не змінюється, однак тенденція щодо його зростання прослідковувалась до кінця дослідного періоду.

У наведеній багатофакторній взаємодії (табл. 3.10) можна побачити достовірний вплив перебігу постнатальної адаптації телят впродовж перших трьох тижнів життя на кількість лейкоцитів у їх крові ( $F=17,88 > F_U=4,26$ ;  $p=0,0003$ ). Отже, вклад в факторіальну дисперсію впливу постнатальної адаптації на вміст лейкоцитів у крові телят склав 17,9 % ( $p < 0,001$ ).

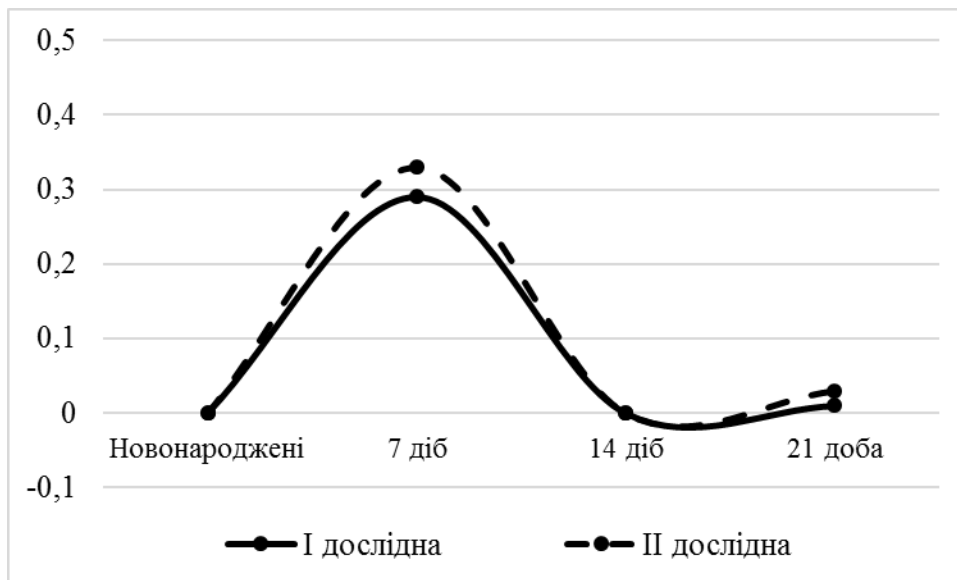
Натомість різний рівень трансфер-фактора, що надходить у організм телят впродовж перших діб життя не лімітує кількість лейкоцитів у їхній крові ( $F=0,63 < F_U=3,41$ ;  $p=0,542$ ).

Таблиця 3.10

**Двофакторний дисперсійний аналіз кількості лейкоцитів крові телят залежно від віку та задавання трансфер-фактора**

Джерело варіації	SS	df	MS	F	P-значення	F критичне
Постнатальна адаптація	18,80	1	18,80	17,88	0,0003	4,26
Трансфер-фактор	1,32	2	0,66	0,63	0,5422	3,41
Взаємозв'язок	1,94	2	0,97	0,92	0,4111	3,41
Внутрішня	25,24	24	1,05			
Всього	47,31	29				

Відсутність достовірного впливу введення трансфер-фактора (не залежно від рівня сенсibilізації) підтверджується проведеним однофакторним дисперсійним аналізом впливу введення трансфер-фактора на кількість лейкоцитів у крові телят (рис. 3.10). Однак, слід відмітити чітку тенденцію щодо становлення впливу введення трансфер-фактора на вміст лейкоцитів у крові тварин ( $\eta^2=0,29-0,33$ ). При чому, даний вплив не залежав від рівня сенсibilізації тварин від яких було отримано трансфер-фактор.



**Рис. 3.10. Вплив введення трансфер-фактора на кількість лейкоцитів у крові телят,  $\eta^2$  (n=5)**

Отже, результати проведених досліджень свідчать, що постнатальна адаптація супроводжується зниженням кількості лейкоцитів у крові телят на 25 %. Введення трансфер-фактора телятам сприяє зростанню вмісту лейкоцитів у крові 7-добових телят на 13–15 % ( $p < 0,05-0,01$ ), однак, достовірну силу впливу на вміст лейкоцитів у крові впродовж перших трьох тижнів життя не чинить.

**Вплив трансфер-фактора на лейкограму крові телят.** Проведені нами дослідження свідчать, що лейкограма крові новонароджених телят дещо відрізняється від фізіологічних показників дорослих тварин (табл. 3.11). Слід відмітити абсолютну лімфопенію та відносну лімфопенію і нейтрофіліоз. Нейтрофіліоз характеризується вищою концентрацією сегментоядерних нейтрофілів, тоді, як відсоток паличкоядерних нейтрофілів істотно не відрізнявся.

У телят контрольної групи від народження до 7-добового віку встановлено зростання частки лімфоцитів 15,6 % ( $p < 0,001$ ). Очевидно, це зростання проходить поряд із зниженням частки сегментоядерних нейтрофілів на 12,8 % ( $p < 0,001$ ), моноцитів та еозинофілів – на 1,2–1,6 %. Із 7- до 14-добового віку відсоток лімфоцитів у загальній кількості лейкоцитів крові телят зростає на 4 % ( $p < 0,01$ ), зростає вміст паличкоядерних нейтрофілів на 1,6 % ( $p < 0,05$ ), натомість



вміст сегментоядерних нейтрофілів знижується на 4,4 % ( $p<0,001$ ). Надалі із 14 до 21 доби досліджень частка лімфоцитів продовжує зростати (збільшується на 4,4 %;  $p<0,05$ ) і становить  $44,6\pm 2,0$  %, натомість знижується частка сегментоядерних нейтрофілів (на 4 %) до показника  $40,2\pm 2,4$  %.

Таблиця 3.11

**Лейкоцитарна формула крові телят за впливу введення трансфер-фактора,  
% ( $M\pm m$ ,  $n=5$ )**

Групи тварин	Агранулоцити		Гранулоцити			
	Лімфоцити	Моноцити	Еозинофіли	Базофіли	Нейтрофіли	
					Сегментоядерні	Паличкоядерні
Новонароджені телята						
Контрольна	20,6±1,4	7,2±0,7	3,2±0,6	1,0±0,3	59,6±2,1	8,4±0,6
I дослідна	20,2±0,9	6,8±0,5	3,0±0,3	1,0±0,0	60,4±0,9	8,6±0,5
II дослідна	20,4±0,7	6,4±0,7	3,2±0,4	1,2±0,2	60,0±1,1	8,8±0,6
Через 7 діб						
Контрольна	36,2±0,8	5,6±0,4	2,0±0,5	1,0±0,3	46,8±1,8	8,4±0,4
I дослідна	38,8±0,9*	7,0±0,3*	2,8±0,2	0,6±0,2	43,0±2,1	7,8±1,0
II дослідна	39,6±1,0**	7,2±0,4* *	2,0±0,3	0,8±0,2	42,6±1,4*	7,8±0,5
Через 14 діб						
Контрольна	40,2±1,3	6,2±0,6	1,2±0,2	0,8±0,2	42,4±1,3	9,2±0,6
I дослідна	42,2±1,2	6,4±0,2	1,8±0,2	0,4±0,2	40,2±1,7	9,0±0,7
II дослідна	41,0±1,8	6,2±0,5	1,6±0,2	0,6±0,2	41,2±2,0	9,4±0,6
Через 21 добу						
Контрольна	44,6±2,0	5,6±0,2	1±0,3	0,6±0,4	38,4±2,4	9,8±0,6
I дослідна	44,8±1,6	5,2±0,5	1±0,0	0,6±0,2	39,0±2,1	9,4±0,6
II дослідна	43,8±1,8	5,2±0,4	1±0,0	0,4±0,2	40,2±2,4	9,4±0,6

Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ .

Застосування трансфер-фактора, отриманого із молозива несенсибілізованих корів, телятам мало істотний вплив на лейкоцитарну формулу крові телят. Так, через 7 діб після введення трансфер-фактора частка лімфоцитів у лейкограмі крові тварин зростає на 18,6 % ( $p<0,001$ ), натомість

частка сегментоядерних нейтрофілів знижується на 17,4 % ( $p < 0,001$ ). Слід відмітити, що у 7-добових телят частка лімфоцитів та моноцитів вище відповідно на 2,6 % ( $p < 0,05$ ) та 1,4 ( $p < 0,05$ ), а частка сегментоядерних нейтрофілів нижче на 3,8 % від показників тварин контрольної групи.

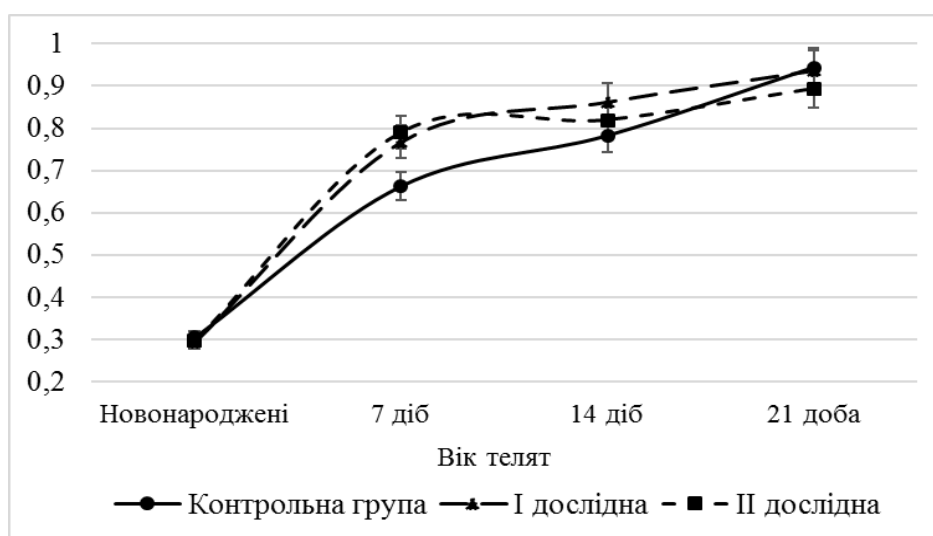
У телят I дослідної групи із 7 до 14 доби життя встановлено зростання частки лімфоцитів на 3,4 % ( $p < 0,05$ ) та зниження частки сегментоядерних нейтрофілів на 2,8 %. Однак, достовірних різниць по даних показниках із такими у тварин контрольної групи не отримано, встановлено лише загальну тенденцію щодо вищої частки лімфоцитів та нижчої частки сегментоядерних нейтрофілів у крові телят у межах двох відсотків. Із 14 до 21 доби життя телят I дослідної групи лейкограма крові не зазнає достовірних змін.

Аналіз проведених досліджень свідчить, що введення телятам після народження трансфер-фактора виділеного із молозива сенсibilізованих корів у більшій мірі вплинуло на лейкограму крові телят, ніж введення трансфер-фактора з лімфоцитів молозива від несенсibilізованих корів. Так, до 7 доби життя у крові телят II дослідної групи частка лімфоцитів зростає на 19,2 % ( $p < 0,001$ ), знижується частка сегментоядерних нейтрофілів на 17,4 % ( $p < 0,001$ ) та еозинофілів на 1,2 % ( $p < 0,01$ ). Надалі до 14 доби життя у крові цих тварин дещо зростає відсоток лімфоцитів та паличкоядерних нейтрофілів (на 1,4 %), натомість частка сегментоядерних нейтрофілів та моноцитів знижується відповідно на 1,4 та 1 % ( $p < 0,05$ ). Із 14 до 21 доби життя телят встановлено лише зростання частки лімфоцитів на 2,8 %, за рахунок рівного зниження частки моноцитів, еозинофілів та сегментоядерних нейтрофілів.

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що лейкоцитарна формула новонароджених телят має деякі відмінності від показників дорослих тварин. Введення трансфер-фактора телятам чинить достовірний вплив на лейкограму крові телят, що проявляється у збільшенні частки лімфоцитів та зниженням частки сегментоядерних нейтрофілів у крові телят впродовж перших двох тижнів життя. Результати цього підрозділу були опубліковані у праці [171].

### 3.3.2. Вплив трансфер-фактора на лейкоцитарний та ядерний індекси крові телят

Проведеними дослідженнями встановлено, що новонароджені телята мають низький показник лейкоцитарного індексу (0,29–0,31 у. о.), однак це характерно для новонароджених тварин і не виходить за фізіологічні межі (рис. 3.11). До 7 доби життя телят показник ядерного індексу збільшується у 2,2 рази ( $p < 0,001$ ), а із 7 до 14 доби життя – ще на 18,1 % ( $p < 0,001$ ). Надалі до 21 доби життя показник лейкоцитарного індексу крові телят контрольної групи зростає ще на 20,6 %.



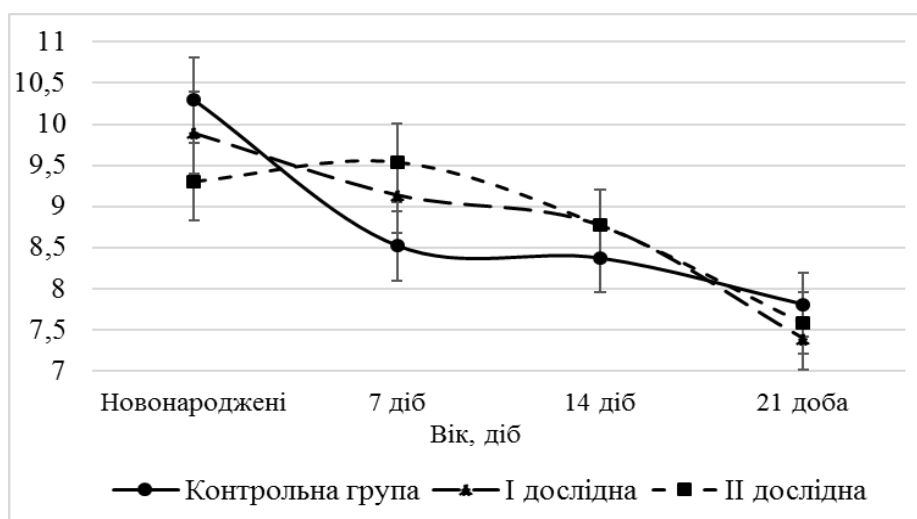
**Рис. 3.11. Вплив трансфер-фактора на лейкоцитарний індекс крові телят, у.о. (n=5)**

За впливу трансфер-фактора отриманого із молозива несенсибілізованих корів у телят показник лейкоцитарного індексу збільшується до 7 доби життя у 2,6 рази ( $p < 0,001$ ) і стає на 15,8 % ( $p < 0,05$ ) вище від такого у тварин контрольної групи. Із 7 до 14 доби у телят I дослідної групи ядерний індекс крові зростає на 12,4 % ( $p < 0,05$ ) і лише на 10,2 % вище від такого у тварин контрольної групи. Із 14 до 21 доби життя телят цей показник у крові телят I дослідної групи збільшується ще на 8,6 % (однак дане зростання знаходиться у межах тенденції) і не різниться із показником тварин контрольної групи.

Проведеними дослідженнями встановлено, що задавання телятам трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива від сенсибілізованих

корів, сприяло зростанню показника лейкоцитарного індексу крові від народження до 7 доби життя майже у 2,7 рази ( $p < 0,001$ ), внаслідок чого цей показник стає вище на 19,2 % ( $p < 0,001$ ) від такого у тварин контрольної групи і на 2,9 % від показників тварин I дослідної групи. Із 7 до 14 доби життя показник лейкоцитарного індексу крові телят II дослідної групи збільшується лише на 4,7 % і до кінця дослідного періоду достовірно не відрізняється від показників тварин інших дослідних груп.

Встановлено, що після народження до 7 доби життя телят проходить зниження показника ядерного індексу крові у телят контрольної групи на 17,2 % ( $p < 0,05$ ), після чого до 14 доби життя даний показник достовірно не змінюється. Із 14 до 21 доби життя показник ядерного індексу знов знижується на 6,7 % (рис. 3.12).



**Рис. 3.12. Ядерний індекс крові телят за введення трансфер-фактора, у. о. (n=5)**

Застосування трансфер-фактора істотно не впливало на показник ядерного індексу крові телят. Так, у тварин I дослідної групи із народження до 7 доби життя знижується на 7,6 %, після чого до 14 доби життя достовірно не змінюється і надалі знижується до 21 доби досліджень на 15,7 % ( $p < 0,05$ ). Слід відмітити, що даний показник у телят I дослідної групи достовірно не відрізняється від показника тварин контрольної групи впродовж усього періоду досліджень.

На відміну від показників тварин контрольної та I дослідної групи, у тварин II дослідної групи від народження до 7 доби життя показник ядерного індексу крові показує тенденцію щодо зростання (на 2,5 %). Внаслідок цього у добових телят II дослідної групи даний показник вище на 9,6 % ( $p < 0,05$ ) та 6,0 % відповідно до показників тварин контрольної та I дослідної групи. Однак, із 7 до 14 доби життя телят ядерний індекс знижується на 8 % і перестає достовірно різнитись із показниками тварин інших дослідних груп. Із 14 до 21 доби життя телят II дослідної групи показник ядерного індексу знижується на 13,5 % ( $p < 0,05$ ), однак, не різниться із таким у інших групах тварин.

Таким чином проведеними дослідженнями отримано нові данні щодо динаміки змін лейкоцитарних індексів крові телят в ранній постнатальний період. Встановлено достовірний вплив введення трансфер-фактора на лейкоцитарний та ядерний індекси телят.

### **3.3.3. Динаміка кількості лімфоцитів та співвідношення різних класів лімфоцитів у крові телят за введення трансфер-фактора**

*Динаміка кількості лімфоцитів.* Не дивлячись на високу кількість лейкоцитів у крові новонароджених телят всіх дослідних груп кількість лімфоцитів є досить низькою (1,84–1,87 Г/л), що є біологічною особливістю новонароджених тварин різних видів. Від народження до 7 доби життя кількість лімфоцитів у крові телят зростає на 33,7 % ( $p < 0,001$ ), із 7 до 14 доби життя ще на 28,4 % ( $p < 0,01$ ), а із 14 до 21 доби життя підвищується ще на 13,2 % ( $p < 0,05$ ). Отже, у 3-тижневих телят контрольної групи кількість лімфоцитів у крові у два рази вище ( $p < 0,001$ ), ніж у новонароджених (табл. 3.12).

Введення трансфер-фактора із лімфоцитів молозива несенсибілізованих корів телятам I дослідної групи сприяло зростанню вмісту лімфоцитів у крові від народження до 7 доби життя на 64,4 % ( $p < 0,001$ ), внаслідок чого даний показник стає вище на 21,2 % ( $p < 0,001$ ) від такого у тварин контрольної групи. Однак, із 7 до 14 доби кількість лімфоцитів у цих тварин збільшується лише на 10,8 % і перестає достовірно відрізнятись від такої у тварин контрольної групи до кінця

дослідного періоду. Із 14 до 21 доби досліджень кількість лімфоцитів у крові телят І дослідної групи збільшується на 10,8 % і лише на 3 % вище від показника тварин контрольної групи.

Таблиця 3.12

**Кількість лімфоцитів у крові телят за задавання трансфер-фактора, Г/л  
( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	1,87±0,05	2,50±0,16	3,20±0,16	3,63±0,21
І дослідна	1,84±0,14	3,02±0,07***	3,35±0,12	3,74±0,23
ІІ дослідна	1,86±0,08	3,15±0,14***	3,30±0,17	3,65±0,12

Примітка. Різниця достовірна за\*\*\*  $p < 0,001$ .

Аналіз проведених досліджень свідчить, що введення трансфер-фактора із лімфоцитів молозива сенсibiliзованих корів телятам ІІ дослідної групи сприяло зростанню кількості лімфоцитів у крові на 69,3 % ( $p < 0,001$ ) до 7 доби життя. Слід відмітити, що у 7-добових телят ІІ дослідної групи вміст лімфоцитів вище на 26,3 % ( $p < 0,001$ ) від показника тварин контрольної групи та на 4,2 % від такого у тварин І дослідної групи. Із 7 до 14 доби життя вміст лімфоцитів у крові телят збільшується лише на 4,2 % і достовірно не відрізняється від показників інших груп до кінця дослідного періоду. Із 14 до 21 доби досліджень вміст лейкоцитів у крові збільшується ще на 10,8 % ( $p < 0,001$ ).

Результати досліджень сили впливу задавання трансфер-фактора на кількість лімфоцитів у крові телят наведені на рисунку 3.13.

Проведеними дослідженнями доведено становлення достовірного впливу трансфер-фактора на кількість лімфоцитів у крові 7-добових телят –  $\eta^2=0,55-0,56$  ( $p < 0,01$ ). При чому, слід відмітити, що сила впливу не залежала від рівня сенсibiliзації організму донорів трансфер-фактора. Із 7 до 14 доби життя телят введення трансфер-фактора тваринам перестає достовірно впливати на кількість лімфоцитів у їхній крові  $\eta^2=0,02-0,06$ . Із 14 до 21 доби життя введення трансфер-фактора новонародженим телятам не проявляло достовірного впливу на кількість лімфоцитів у їхній крові.



**Рис. 3.13. Вплив введення трансфер-фактора на кількість лімфоцитів у крові телят,  $\eta^2$  (n=5)**

Результати двофакторного дисперсійного аналізу (табл. 3.13) вмісту лімфоцитів крові телят впродовж першого тижня життя за введення трансфер-фактора вказують на достовірний вплив перебігу постнатальної адаптації телят впродовж першого тижня життя на кількість лімфоцитів у їхній крові ( $F=4,41 > F_{U=3,40}$ ;  $p=0,023$ ). Натомість застосування трансфер-фактора чинить більш істотний вплив на вміст лейкоцитів у крові телят ( $F=4,41 > F_{U=3,40}$ ;  $p=0,023$ ).

*Таблиця 3.13*

**Двофакторний дисперсійний аналіз вмісту лімфоцитів крові телят впродовж першого тижня життя за застосування трансфер-фактора**

Джерело варіації	SS	df	MS	F	P-значення	F критичне
Постнатальна адаптація	0,58	2	0,29	4,41	0,023	3,40
Трансфер-фактор	8,048	1	8,04	122,02	6,8E-11	4,26
Взаємозв'язок	0,63	2	0,32	4,80	0,018	3,40
Внутрішня	1,58	24	0,07			
Всього	10,83	29				

Цікаво відмітити, що встановлено достовірну взаємодію постнатальної адаптації та рівня забезпеченості трансфер-фактором організму новонароджених телят ( $F=4,80 > F_{U=3,40}$ ;  $p < 0,018$ ). Очевидно встановлена взаємодія має однобічну залежність.

Отже, результати досліджень вказують на істотні зміни вмісту лімфоцитів у крові новонароджених телят впродовж перших трьох тижнів життя. Встановлені зміни є наслідком постнатальної адаптації тварин. У той же час встановлено достовірний вплив введення трансфер-фактора новонародженим телятам на вміст лейкоцитів у їхній крові.

**Співвідношення різних класів лімфоцитів.** Проведені дослідження свідчать, що новонароджені телята характеризуються цілком сформованою лімфоцитарною системою (табл. 3.14). Так, у новонароджених телят всіх дослідних груп кількість Т-лімфоцитів у крові сягала 60 %, а решта лейкоцитів відносились до В- та 0-лімфоцитів, при чому, їхня частка у загальній кількості лімфоцитів крові тварин була однаковою і складала 20 %.

Таблиця 3.14

**Співвідношення різних класів лімфоцитів у крові телят за застосування трансфер-фактора, % ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Показник	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна група				
Т-лімфоцити	59,8 $\pm$ 2,1	62,3 $\pm$ 0,6	60,7 $\pm$ 0,5	58,3 $\pm$ 2,02
В-лімфоцити	19,8 $\pm$ 1,2	18,1 $\pm$ 0,3	19,7 $\pm$ 0,3	20,5 $\pm$ 0,5
0-лімфоцити	20,4 $\pm$ 1,7	19,7 $\pm$ 0,8	19,6 $\pm$ 0,5	21,2 $\pm$ 2,5
I дослідна група				
Т-лімфоцити	59,6 $\pm$ 1,0	69,5 $\pm$ 0,4***	63,3 $\pm$ 2,1	58,9 $\pm$ 1,5
В-лімфоцити	19,4 $\pm$ 0,7	18,1 $\pm$ 0,4	19,6 $\pm$ 0,3	20,3 $\pm$ 0,5
0-лімфоцити	20,9 $\pm$ 1,4	12,5 $\pm$ 0,4***	17,1 $\pm$ 2,3	20,8 $\pm$ 1,1
II дослідна група				
Т-лімфоцити	60,2 $\pm$ 1,8	69,9 $\pm$ 0,7***	63,0 $\pm$ 1,0	59,9 $\pm$ 1,1
В-лімфоцити	19,4 $\pm$ 0,9	18,1 $\pm$ 0,3	19,1 $\pm$ 0,2	20,9 $\pm$ 0,8
0-лімфоцити	20,4 $\pm$ 1,8	12,0 $\pm$ 0,7***	17,9 $\pm$ 0,9	19,2 $\pm$ 1,0

Примітка. Різниця достовірною за\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .



У телят контрольної групи від народження до 7 доби життя проходить підвищення частки Т-лімфоцитів на 2,5 %, а частка В- і 0-лімфоцитів відповідно зменшується на 1,7 % ( $p < 0,05$ ) та 0,7 %. Із 7 до 14 доби життя проходить зворотне зниження частки Т-лімфоцитів у крові телят на 1,6 % ( $p < 0,05$ ) за рахунок збільшення частки В-лімфоцитів на 1,6 ( $p < 0,05$ ), причому частка 0-лімфоцитів не змінюється. Із 14 до 21 доби досліджень частка Т-лімфоцитів знижується ще на 2,4 %, а частка В- і 0-лімфоцитів збільшується відповідно на 0,8 % та 1,6 % ( $p < 0,05$ ).

Задавання новонародженим телятам трансфер-фактора отриманого із молозива несенсибілізованих до збудника сальмонельозу корів мало значний вплив на співвідношення різних класів лімфоцитів у крові телят. Зокрема, від народження до 7 доби життя частка Т-лімфоцитів збільшується на 9,9 % ( $p < 0,001$ ) за рахунок зниження частки В- та 0-лімфоцитів відповідно на 1,3 та 8,4 % ( $p < 0,001$ ). Внаслідок цього, у 7-добових телят І дослідної групи кількість Т-лімфоцитів у крові стає вище на 7,2 % ( $p < 0,001$ ), а кількість 0-лімфоцитів нижча на 7,2 % ( $p < 0,001$ ) від показників тварин контрольної групи. Із 7 до 14 доби досліджень частка Т-лімфоцитів у крові телят знижується на 6,2 % ( $p < 0,001$ ), натомість збільшується частка В-лімфоцитів та 0-лімфоцитів відповідно на 1,5 % ( $p < 0,05$ ) і 4,6 % ( $p < 0,01$ ). У 14-добових телят І дослідної групи частка Т-лімфоцитів вище на 2,6 %, а частка 0-лімфоцитів на 2,5 % нижче від показників тварин контрольної групи.

Встановлено, що із 14 до 21 доби досліджень проходить зниження частки Т-лімфоцитів у крові телят І дослідної групи на 4,4 % ( $p < 0,05$ ) за рахунок зростання частки В- та 0-лімфоцитів відповідно на 0,7 % та 3,7 % ( $p < 0,05$ ). Співвідношення різних класів лімфоцитів у крові телят І дослідної групи на 21 добу досліджень достовірно не відрізнялось від такого у тварин контрольної групи.

Задавання телятам трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива сенсибілізованих корів сприяло збільшенню частки Т-лімфоцитів у крові телят до 7-добового віку на 9,7 % ( $p < 0,001$ ), при чому, частка В- і 0-лімфоцитів

відповідно знижувалась на 1,3 % та 7,6 % ( $p < 0,001$ ). Внаслідок такої перебудови співвідношення лімфоцитів, у крові телят II дослідної групи частка Т-лімфоцитів стає вищою на 7,6 % ( $p < 0,001$ ), а частка 0-лімфоцитів нижче відповідно на 7,6 % ( $p < 0,001$ ) від такої у тварин контрольної групи. Із 7 до 14 доби життя частка Т-лімфоцитів у крові телят II дослідної групи знижується на 6,9 % ( $p < 0,001$ ) за рахунок зростання частки 0-лімфоцитів на 5,9 % ( $p < 0,001$ ) та В-лімфоцитів на 1,0 %. У 14-добових телят II дослідної групи частка Т-лімфоцитів вище на 2,3 % ( $p < 0,05$ ), а частка 0-лімфоцитів нижче на 1,7 % ( $p < 0,05$ ) від показників тварин контрольної групи. Із 14 до 21 доби життя телят частка Т-лімфоцитів продовжувала знижуватись (на 3,1 %;  $p < 0,01$ ), а частка В- і 0-лімфоцитів відповідно підвищувалась на 1,8 % ( $p < 0,05$ ) і 1,3 %.

Слід відмітити, що співвідношення різних класів лімфоцитів у крові телят, яким задавали трансфер-фактор отриманий із молозива сенсibilізованих та несенсibilізованих корів достовірно не відрізнялось. Слід лише відмітити тенденцію щодо вищої частки Т-лімфоцитів та зниження частки 0-лімфоцитів у крові телят II дослідної групи у 7-добовому віці у порівнянні із показниками тварин I дослідної групи.

Отже, проведеними дослідженнями встановлено динаміку змін співвідношення різних класів лімфоцитів у крові телят перших трьох тижнів життя. Доведено достовірний вплив введення трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива, на співвідношення різних класів лімфоцитів у крові телят. Зокрема, встановлено зростання частки Т-лімфоцитів та зниження частки 0-лімфоцитів у крові телят впродовж першого тижня життя за впливу трансфер-фактора.

### **3.3.4. Динаміка вмісту Т-лімфоцитів та Т-активних лімфоцитів у крові телят за введення трансфер-фактора**

*Динаміка вмісту Т-лімфоцитів.* Проведеними дослідженнями встановлено, що новонароджені телята характеризуються низькою кількістю Т-лімфоцитів у крові (1,10–1,12 Г/л), що свідчить про незначний рівень

специфічної імунної відповіді. Однак, від народження до 7 доби життя кількість лімфоцитів збільшується на 55,3 % ( $p<0,001$ ), а із 7 до 14 доби життя збільшується ще на 25,1 % ( $p<0,001$ ) і наближається до показників дорослих тварин (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

**Кількість Т-лімфоцитів у крові телят за застосування трансфер-фактора,  
Г/л ( $M\pm m$ ,  $n=5$ )**

Група тварин	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	1,12 $\pm$ 0,06	1,55 $\pm$ 0,10	1,94 $\pm$ 0,09	2,10 $\pm$ 0,08
I дослідна	1,10 $\pm$ 0,10	2,10 $\pm$ 0,06***	2,12 $\pm$ 0,11	2,19 $\pm$ 0,10
II дослідна	1,12 $\pm$ 0,06	2,20 $\pm$ 0,10***	2,08 $\pm$ 0,13	2,19 $\pm$ 0,08

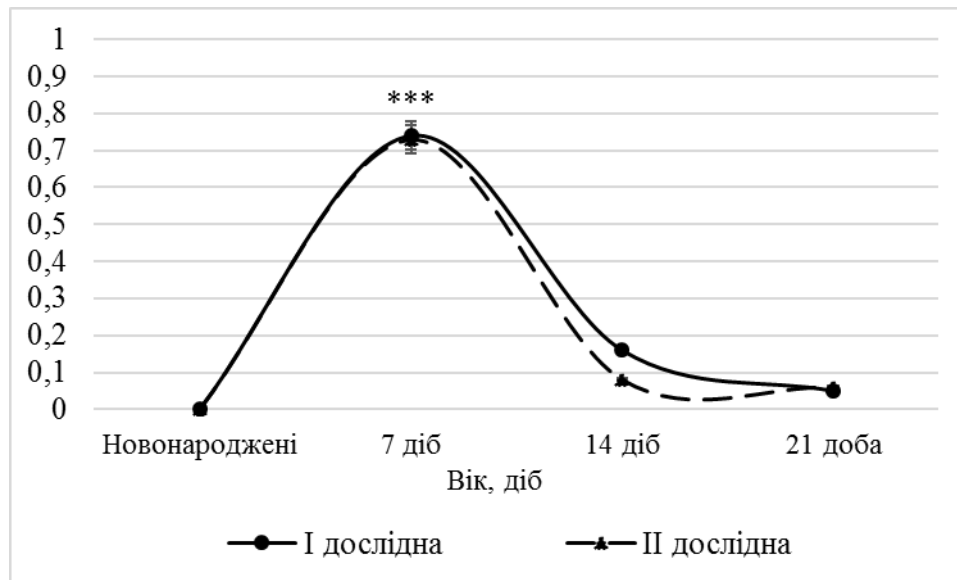
Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .

Задавання новонародженим телятам трансфер-фактора виділеного із лімфоцитів молозива несенсибілізованих корів сприяє зростанню абсолютного вмісту Т-лімфоцитів у крові. Зокрема, від народження до 7-добового віку кількість Т-лімфоцитів у крові телят I дослідної групи збільшується у 1,9 раза ( $p<0,001$ ) і стає вищою на 35,3 % ( $p<0,001$ ) від показника тварин контрольної групи на цьому етапі досліджень. Надалі із 7 до 21 доби життя телят кількість Т-лімфоцитів достовірно не змінюється, однак встановлено чітку тенденцію щодо вищої їхньої кількості (у межах 4–9 %).

Аналіз отриманих результатів вказує на те, що задавання телятам трансфер-фактора, отриманого із лімфоцитів молозива, сенсибілізованих корів сприяє збільшенню абсолютної кількості Т-лімфоцитів у крові до 7 доби життя майже у два рази ( $p<0,001$ ), внаслідок чого даний показник зростає на 41,8 % ( $p<0,001$ ) від такого у тварин контрольної групи та на 4,8 % від показника тварин I дослідної групи на цьому етапі досліджень. Із 7 до 14 доби життя кількість Т-лімфоцитів у крові телят II дослідної групи знижується на 5,5 %, однак залишається вище на 7,1 % від показника тварин контрольної групи. Слід відмітити, що із 14 до 21 доби досліджень кількість Т-лімфоцитів у крові телят II

дослідної групи показує тенденцію до збільшення (зростає на 5,1 %), однак достовірно не різниться із показниками тварин інших груп.

Встановлено достовірну силу впливу введення трансфер-фактора на кількість Т-лімфоцитів у крові телят (рис. 3.14).



**Рис. 3.14. Вплив введення трансфер-фактора на кількість Т-лімфоцитів у крові телят,  $\eta^2$  (n=5)**

Проведені дослідження свідчать, що не залежно від рівня сенсibilізації організму донорів трансфер-фактора, його введення новонародженим телятам сприяє становленню достовірного впливу на кількість Т-лімфоцитів у крові телят до 7 доби життя ( $\eta^2=0,72-0,73$ ;  $p<0,001$ ). Однак, уже до 14-добового віку вплив введення трансфер-фактора на кількість Т-лімфоцитів є недостовірним ( $\eta^2=0,08-0,16$ ) і не проявляється до кінця дослідного періоду.

Отже, новонароджені телята мають низьку кількість Т-лімфоцитів у крові, яка впродовж перших трьох тижнів життя зростає вдвічі. Встановлено достовірний вплив введення трансфер-фактора новонародженим телятам на абсолютну кількість Т-лімфоцитів у їхній крові.

**Динаміка вмісту Т-активних лімфоцитів.** Функціональна активність лімфоцитів є важливим показником інтенсивності клітинного захисту організму. Результати досліджень вмісту Т-активних лімфоцитів (табл. 3.16) свідчать, що

новонароджені телята мають незначну кількість функціонально зрілих лімфоцитів – 0,44–0,46 Г/л, однак, це характерно для новонароджених тварин. Слід відмітити, що після народження до 7 доби життя проходить збільшення вмісту Т-активних лімфоцитів у крові на 43,5 % ( $p<0,001$ ). Кількість цих клітин крові продовжує зростати до 14 та 21 доби життя телят відповідно на 53,7 % ( $p<0,001$ ) та 14,7 % ( $p<0,05$ ).

Таблиця 3.16

**Кількість Т-активних лімфоцитів у крові телят за застосування  
трансфер-фактора, Г/л ( $M\pm m$ ,  $n=5$ )**

Група тварин	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	0,46 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,05	1,00 $\pm$ 0,06	1,14 $\pm$ 0,06
I дослідна	0,44 $\pm$ 0,03	0,96 $\pm$ 0,08***	1,08 $\pm$ 0,05	1,17 $\pm$ 0,09
II дослідна	0,46 $\pm$ 0,04	1,01 $\pm$ 0,03***	1,10 $\pm$ 0,09	1,11 $\pm$ 0,01

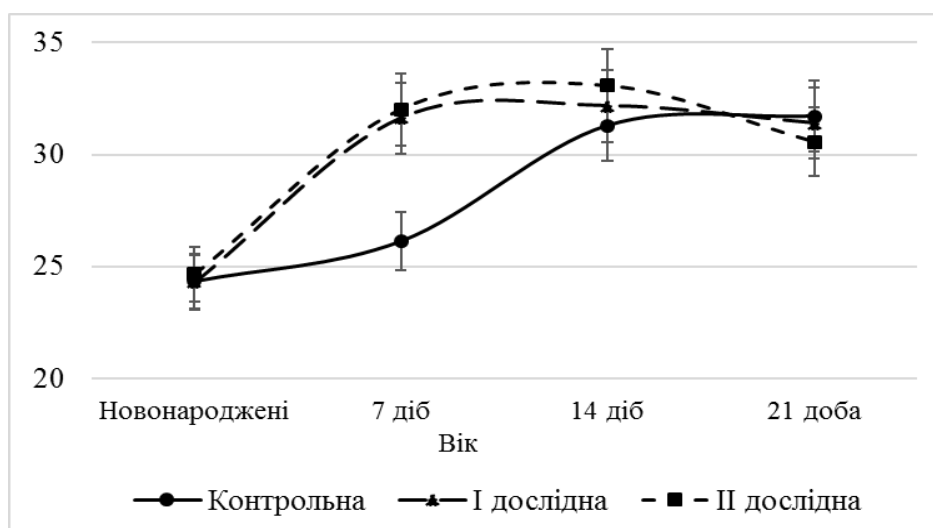
Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .

Встановлено, що у телят I дослідної групи вміст Т-активних лімфоцитів у крові збільшується після народження впродовж тижня у 2,1 рази ( $p<0,001$ ). Натомість із 7 до 14 та із 14 до 21 доби життя підвищується менш інтенсивно, ніж у тварин контрольної групи, відповідно на 12,7 та 8,9 %. Слід відмітити, що кількість Т-активних лімфоцитів у крові 7-добових телят I дослідної групи вище на 46,6 % ( $p<0,001$ ) від такої у тварин контрольної групи, однак, уже через тиждень перестає достовірно відрізнятись від показників контрольної групи телят.

Проведені дослідження свідчать, що задавання телятам трансфер-фактора отриманого від сенсibilізованих корів мало більш активний вплив на кількість Т-активних лімфоцитів у крові телят. Так, від народження та до 7 доби життя кількість активних Т-клітин збільшується у 2,2 раза ( $p<0,001$ ) і стає на 57,7 % ( $p<0,001$ ) вище від такої у тварин контрольної групи та на 5,5 % від показника тварин I дослідної групи. Із 7 до 14 доби життя телят II дослідної групи кількість

Т-активних лімфоцитів збільшується лише на 8 %, однак залишається на 8,7 % вищою від такої у тварин контрольної групи, хоча і у межах тенденції. Надалі до кінця дослідного періоду кількість Т-активних лімфоцитів у крові телят ІІ дослідної групи істотно не коливається і не різниться із показниками телят інших груп.

Поряд із істотним зростанням абсолютного вмісту Т-активних лімфоцитів у крові телят після народження та до 7-добового віку, їхній відносний вміст збільшувався менш інтенсивно – на 7,3 % (рис. 3.15). Однак уже із 7 до 14 доби життя телят контрольної групи частка Т-активних лімфоцитів збільшувалась на 19,7 % ( $p < 0,001$ ), після чого залишалась на такому рівні до кінця дослідного періоду.



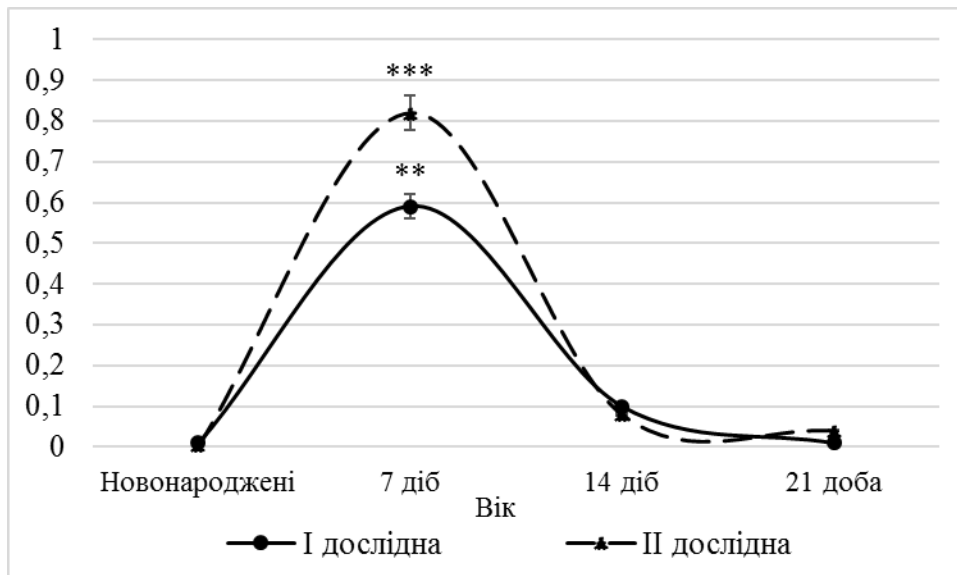
**Рис. 3.15. Вплив введення трансфер-фактора на відносну кількість Т-активних лімфоцитів у крові телят, % (n=5)**

На відміну від тварин контрольної групи, у тварин І дослідної групи частка Т-активних лімфоцитів у крові після народження впродовж тижня збільшувалась на 30,2 % ( $p < 0,001$ ) і була на 21,0 % ( $p < 0,001$ ) більшою від такої у тварин контрольної групи. Із 7 до 21 доби життя частка Т-активних лімфоцитів у крові тварин І дослідної групи достовірно не змінюється в наслідок чого у 14-добових тварин І дослідної групи вона достовірно не відрізняється від показників тварин контрольної групи до кінця досліджень.

Проведеними дослідженнями встановлено, що у телят II дослідної групи, яким задавали трансфер-фактор, отриманий з лімфоцитів молозива від сенсibilізованих корів, від народження та до 7 доби життя відносний вміст Т-активних лімфоцитів зростає на 29,8 % ( $p < 0,001$ ) і стає вище на 22,4 % ( $p < 0,001$ ) від показників тварин контрольної групи. Із 7 до 14 доби життя частка Т-активних лімфоцитів у крові телят II дослідної групи підвищується лише на 3,3 % і перестає відрізнятися від такої у тварин інших дослідних груп не дивлячись на її зниження з 14 до 21 доби досліджень (на 7,5 %).

Слід відмітити, що достовірних різниць у відносному вмісті Т-активних лімфоцитів у крові тварин дослідних груп встановлено не було, що вказує на відсутність впливу рівня сенсibilізації трансфер-фактора на процентний вміст Т-активних лімфоцитів у крові телят.

Отримані дані свідчать про достовірний вплив введення трансфер-фактора на абсолютний вміст Т-активних лімфоцитів у крові телят (рис. 3.16). Застосування телятам трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива несенсibilізованих корів сприяло становленню достовірної сили впливу трансфер-фактора до 7 доби життя –  $\eta^2 = 0,59$  ( $p < 0,001$ ).



**Рис. 3.16. Вплив введення трансфер-фактора на кількість Т-активних лімфоцитів у крові телят,  $\eta^2$  ( $n=5$ )**

Проведені дослідження свідчать, що застосування трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива сенсibilізованих корів мало значно сильніший вплив на вміст Т-активних лімфоцитів у крові телят –  $\eta^2=0,82$  ( $p<0,001$ ). Однак, встановлений достовірний вплив зникає до 14 доби життя і не проявляється до кінця дослідного періоду.

Таким чином отримані результати свідчать, що новонароджені телята мають низький абсолютний та відносний вміст функціонально зрілих лімфоцитів, однак уже до 2-тижневого віку кількість Т-активних лімфоцитів і їхня частка у загальному вмісті лімфоцитів істотно зростають. Встановлено достовірний вплив застосування трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива, як сенсibilізованих так і несенсibilізованих корів, на абсолютний вміст Т-активних лімфоцитів у крові 7-добових телят.

### 3.3.5. Динаміка вмісту В-лімфоцитів у крові телят за введення трансфер-фактора

Новонароджені телята поряд із низьким вмістом Т-лімфоцитів мають низьку абсолютну кількість В-лімфоцитів у крові (табл. 3.17), що свідчить про низький рівень гуморальної ланки імунного захисту.

Від народження та до 7 доби життя кількість В-лімфоцитів у крові телят контрольної групи збільшується на 22,3 % ( $p<0,05$ ), а із 7 до 14 доби – на 40 % ( $p<0,001$ ). Надалі із 14- до 21-добового віку кількість В-лімфоцитів достовірно збільшується ще на 17,2 % ( $p<0,05$ ).

Таблиця 3.17

#### Кількість В-лімфоцитів у крові телят за застосування трансфер-фактора, Г/л ( $M\pm m$ , $n=5$ )

Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	0,37 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,03	0,63 $\pm$ 0,03	0,74 $\pm$ 0,04
I дослідна	0,36 $\pm$ 0,04	0,55 $\pm$ 0,02*	0,66 $\pm$ 0,02	0,76 $\pm$ 0,06
II дослідна	0,36 $\pm$ 0,01	0,57 $\pm$ 0,04*	0,63 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,03

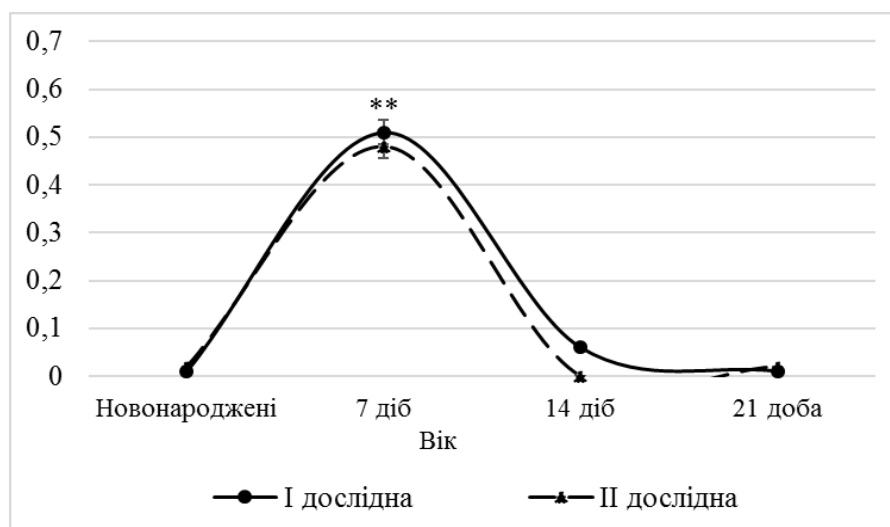
Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .



Задавання новонародженим телятам трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива несенсибілізованих корів сприяє зростанню абсолютної кількості В-лімфоцитів у крові до 7-добового віку на 52,3 % ( $p<0,001$ ) і стає вищим на 21,2 % ( $p<0,05$ ) від показника тварин контрольної групи на цьому етапі досліджень. Із 7 до 14 доби життя телят І дослідної групи кількість В-лімфоцитів у крові збільшується на 20 % ( $p<0,01$ ), а із 14 до 21 доби життя ще на 16,5 % ( $p<0,05$ ), однак достовірно не відрізняється від показників тварин контрольної групи, хоча і встановлено тенденцію щодо збільшення їх кількості.

У тварин ІІ дослідної групи кількість В-лімфоцитів у крові від народження до 7 доби життя збільшується на 52,3 % ( $p<0,001$ ) і стає вище на 26,9 % ( $p<0,05$ ) від такої у тварин контрольної групи та на 4,7 % від показника тварин І дослідної групи. Із 7 до 14 та із 14 до 21 доби життя телят ІІ дослідної групи кількість В-лімфоцитів збільшувалась ще на 9,7 % та 21 % ( $p<0,05$ ), однак, достовірно не відрізняється від показників тварин інших груп.

Результати обрахунку впливу введення трансфер-фактора на кількість В-лімфоцитів у крові телят наведені на рисунку 3.17. Застосування трансфер-фактора проявляло достовірний вплив на кількість В-лімфоцитів лише через 7 діб після народження. Сила впливу трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива, на кількість В-лімфоцитів у 7-добових телят І та ІІ дослідної групи становить відповідно –  $\eta^2=0,51$  і  $\eta^2=0,48$  ( $p<0,01$ ).

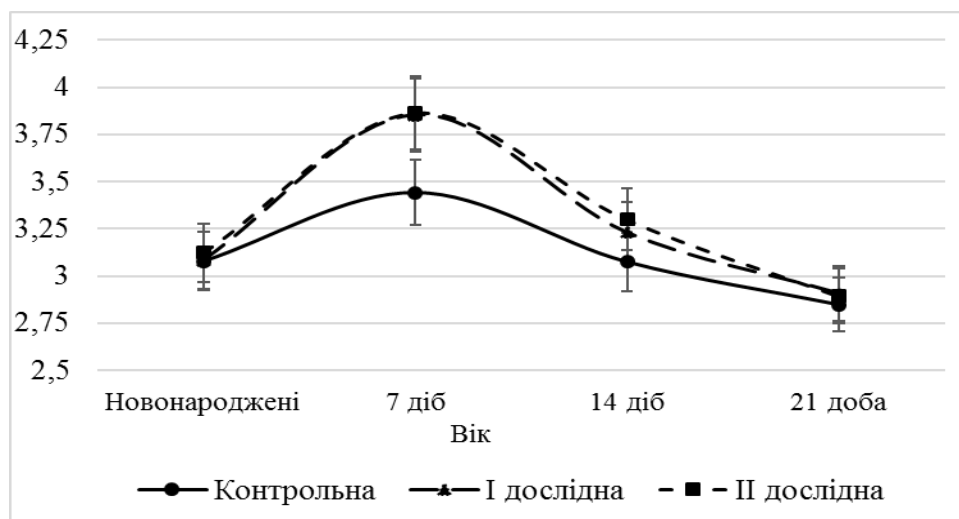


**Рис. 3.17. Вплив введення трансфер-фактора на кількість В-лімфоцитів у крові телят,  $\eta^2$  (n=5)**

Таким чином у новонароджених телят низька кількість В-лімфоцитів у крові, яка впродовж перших трьох тижнів життя істотно збільшується. Встановлено достовірний вплив введення трансфер-фактора новонародженим телятам на абсолютну кількість В-лімфоцитів у їхній крові, що визначається достовірним збільшенням їхньої кількості у крові 7-добових телят.

### 3.3.6. Вплив введення трансфер-фактора на відношення Т/В-лімфоцитів у крові телят

Відношення Т/В-лімфоцитів вказує на збалансованість клітинної і гуморальної ланки імунного захисту. Проведеними дослідженнями встановлено, що показник Т/В-лімфоцити у новонароджених телят всіх дослідних груп становить 3,08–3,12 у.о. (рис. 3.18), що відповідає фізіологічним нормам для новонароджених телят (2,0–3,5 у.о.).



**Рис. 3.18.** Вплив введення трансфер-фактора на відношення Т/В-лімфоцитів у крові телят, у. о. (n=5)

Встановлено збільшення відношення Т/В-лімфоцитів у крові телят контрольної групи на 11,8 % ( $p < 0,05$ ) від народження до 7 доби життя. Однак, уже до 14-добового віку даний інтегральний показник знижується на 10,6 % ( $p < 0,05$ ). Із 14 до 21 доби досліджень відношення Т/В-лімфоцитів у крові телят контрольної групи знижується на 7,4 % і становить 2,85 у. о., що не виходить за фізіологічні межі.

Застосування трансфер-фактора, отриманого як із молозива сенсibiliзованих, так і несенсибилизированих корів, сприяло зростанню індексу відношення Т/В-лімфоцитів до 7 доби життя на 24–25 % ( $p < 0,001$ ). Внаслідок цього даний показник крові тварин І та ІІ дослідної групи стає вище відповідно на 12,0 % ( $p < 0,05$ ) і 12,3 % ( $p < 0,05$ ) від такого у тварин контрольної групи на цьому етапі досліджень. Із 7 до 14 доби життя відношення Т/В-лімфоцитів у крові телят дослідних груп знижується на 14,6–16,1 % ( $p < 0,05$ ) і перестає достовірно відрізнятися від показників тварин контрольної групи до кінця дослідного періоду.

Отже, застосування трансфер-фактора сприяє зсуву балансу між клітинною і гуморальною ланкою імунного захисту у бік збільшення клітинної ланки, що свідчить про стимулюючий вплив введення трансфер-фактора на імунні реакції клітинного типу.

### **3.3.7. Динаміка вмісту 0-лімфоцитів у крові телят за введення трансфер-фактора**

Як відомо, 0-лімфоцити не мають поверхневих маркерів і розглядаються як резервні популяції недиференційованих лімфоцитів, які за потреби можуть диференціюватися у Т- або В-лімфоцити. Проведеними дослідженнями встановлено, що у новонароджених телят, не зважаючи на вищу відносну кількість 0-лімфоцитів, їхній абсолютний вміст є досить низьким і становить 0,38 Г/л. Встановлено поступове зростання кількості 0-лімфоцитів у крові телят контрольної групи від народження до 3-тижневого віку в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), зокрема, від народження до 7 доби життя – на 29,5 % ( $p < 0,01$ ), із 7- до 14-добового віку – на 28,2 % ( $p < 0,05$ ) та із 14 до 21 доби життя – на 24,3 % (табл. 3.18).

На відміну від показників тварин контрольної групи кількість 0-лімфоцитів у крові телят І дослідної групи впродовж першого тижня життя не змінюється, внаслідок чого стає на 23,4 % ( $p < 0,01$ ) нижчою від такої у тварин контрольної групи. Однак уже із 7 до 14 доби життя даний показник крові тварин

I дослідної групи збільшується в 1,5 рази ( $p<0,001$ ) і стає лише на 9 % нижче від такого у тварин контрольної групи. Із 14 до 21 доби життя кількість 0-лімфоцитів у крові телят I дослідної групи збільшується на 36,7 % ( $p<0,05$ ) і не відрізняється від показників тварин контрольної групи.

Таблиця 3.18

**Кількість 0-лімфоцитів у крові телят за застосування трансфер-фактора,  
Г/л ( $M\pm m$ ,  $n=5$ )**

Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	$0,380\pm 0,029$	$0,491\pm 0,039$	$0,630\pm 0,043$	$0,783\pm 0,131$
I дослідна	$0,379\pm 0,024$	$0,376\pm 0,008^{**}$	$0,573\pm 0,077$	$0,784\pm 0,076$
II дослідна	$0,383\pm 0,039$	$0,377\pm 0,023^{*}$	$0,587\pm 0,028$	$0,704\pm 0,053$

Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .

Аналогічно до показників тварин I дослідної групи кількість 0-лімфоцитів у крові телят II дослідної групи достовірно не змінюється і стає на 24,3 % ( $p<0,05$ ) нижче від показника тварин контрольної групи. Із 7 до 14 доби життя кількість 0-лімфоцитів у крові телят II дослідної групи збільшується на 55,7 % ( $p<0,001$ ) і нижче лише на 6,8 % від такої у тварин контрольної групи. Із 14 до 21 доби життя телят кількість 0-лімфоцитів продовжує збільшуватись (на 19,9 %;  $p<0,01$ ), однак не відрізняється від такої у тварин контрольної групи.

Слід відмітити відсутність достовірних різниць у кількості 0-лімфоцитів у крові телят дослідних груп впродовж всього періоду досліджень, однак, прослідковувалась тенденція щодо дещо вищого їхнього вмісту у крові тварин II дослідної групи у 14-добовому віці та нижчого у 21-добовому віці у порівнянні із показниками тварин I дослідної групи на цьому етапі досліджень.

Як видно із рисунку 3.19, введення трансфер-фактора новонародженим телятам сприяє становленню його достовірного впливу на кількість 0-лімфоцитів у крові на 7 добу життя. Зокрема, сила впливу введення трансфер-фактора отриманого із молозива несенсибілізованих корів на кількість 0-лімфоцитів у

крові складає –  $\eta^2=0,51$  ( $p<0,01$ ), тоді, як сила впливу введення трансфер-фактора отриманого із молозива сенсibilізованих корів на кількість 0-лімфоцитів у крові складає  $\eta^2=0,45$  ( $p<0,05$ ).



**Рис. 3.19. Вплив введення трансфер-фактора на кількість 0-лімфоцитів у крові телят,  $\eta^2$  ( $n=5$ )**

Примітка. Різниця достовірна за: \*\* –  $p<0,01$ .

Проведеними дослідженнями встановлено, що вплив введення трансфер-фактора на кількість 0-лімфоцитів у крові телят із 7- до 14-добового віку повністю зникає і не проявляється до кінця дослідного періоду ( $\eta^2=0,00$  –  $0,09$ ).

Таким чином, отримані дані свідчать, що новонароджені телята мають низьку кількість 0-лімфоцитів у крові, однак, до 3-тижневого віку вона збільшується у два рази. Введення трансфер-фактора новонародженим телятам сприяє зниженню кількості 0-лімфоцитів у їхній крові, що пояснюється встановленою силою впливу ( $\eta^2=0,45$  –  $0,51$ ;  $p<0,05$  –  $0,01$ ).

### **3.3.8. Аналіз вмісту різних класів лімфоцитів у крові телят в період постнатальної адаптації за введення трансфер-фактора**

Проведені дослідження свідчать про суттєвий вплив та взаємозв'язки вмісту різних класів лімфоцитів у крові телят від народження до 21-добового віку

за введення трансфер-фактора отриманого із молозива як сенсibilізованих так і несенсibilізованих корів (табл. 3.19, 3.20).

Таблиця 3.19

**Двофакторний дисперсійний аналіз вмісту різних класів лімфоцитів у крові телят в період постнатальної адаптації за введення трансфер-фактора**

Джерело варіації	SS	df	MS	F	P-значення	F критичне
Т-лімфоцити						
Постнатальна адаптація	10,30	3	3,43	80,80	8,9E-19	2,80
Трансфер-фактор	0,58	2	0,29	6,86	0,002	3,19
Взаємозв'язок	0,75	6	0,13	2,95	0,016	2,29
Внутрішня	2,04	48	0,04			
Всього	13,68	59				
Т-активні лімфоцити						
Постнатальна адаптація	4,24	3	1,41	85,72	2,72E-19	2,80
Трансфер-фактор	0,14	2	0,07	4,30	0,019	3,19
Взаємозв'язок	0,26	6	0,04	2,67	0,026	2,29
Внутрішня	0,79	48	0,02			
Всього	5,43	59				

Результати двофакторного дисперсійного аналізу вказують на достовірний вплив перебігу постнатальної адаптації телят впродовж перших трьох тижнів життя на кількість різних класів лімфоцитів у крові. Зокрема, встановлено достовірний вплив постнатальної адаптації на кількість Т-лімфоцитів ( $F=80,8 > F_{U=2,8}$ ;  $p=0,00089$ ), Т-активних лімфоцитів ( $F=85,7 > F_{U=2,8}$ ;  $p=0,00089$ ), В-лімфоцитів ( $F=82,22 > F_{U=2,8}$ ;  $p=0,000628$ ) та 0-лімфоцитів ( $F=27,66 > F_{U=2,8}$ ;  $p=0,0023$ ).

Натомість, застосування трансфер-фактора чинить достовірний вплив лише на вміст Т-лімфоцитів у крові телят ( $F=6,86 > F_{U=3,19}$ ;  $p=0,002$ ) і Т-

активних лімфоцитів ( $F=4,3 > F_{U=3,19}$ ;  $p=0,019$ ), тоді, як вплив застосування трансфер-фактора на кількість В-лімфоцитів та 0-лімфоцитів є недостовірний.

Таблиця 3.20

**Двофакторний дисперсійний аналіз вмісту різних класів лімфоцитів  
у крові телят в період постнатальної адаптації  
за введення трансфер-фактора**

Джерело варіації	SS	df	MS	F	P- значення	F критичне
<b>В-лімфоцити</b>						
Постнатальна адаптація	1,26	3	0,42	82,22	6,28E-19	2,80
Трансфер- фактор	0,01	2	0,01	1,41	0,26	3,19
Взаємозв'язок	0,03	6	0,01	1,00	0,44	2,29
Внутрішня	0,25	48	0,01			
Всього	1,55	59				
<b>0-лімфоцити</b>						
Постнатальна адаптація	1,37	3	0,46	27,66	1,56E-10	2,80
Трансфер- фактор	0,04	2	0,02	1,10	0,34	3,19
Взаємозв'язок	0,04	6	0,01	0,37	0,89	2,29
Внутрішня	0,79	48	0,01			
Всього	2,24	59				

Цікаво відмітити встановлену під час дослідження впливу постнатальної адаптації та рівня забезпеченості організму новонароджених телят трансфер-фактором отриманого з лімфоцитів молозива на вміст Т-лімфоцитів, достовірну взаємодію факторів впливу ( $F=4,80 > F_{U=3,40}$ ;  $p<0,018$ ), яка очевидно має однобічну залежність. Тобто, трансфер-фактор безпосередньо впливає на швидкість постнатальної адаптації тварин.

Отже, результати досліджень вказують на істотний вплив постнатальної адаптації та рівня забезпеченості організму новонароджених телят трансфер-фактором, отриманим з лімфоцитів молозива, на вміст різних класів лімфоцитів у їхній крові. Встановлено вплив трансфер-фактора на швидкість постнатальної адаптації телят.

### 3.3.9. Вплив трансфер-фактора на субпопуляційний склад Т-лімфоцитів у крові телят

Відомо, що основною функцією Т-хелперів є розпізнавання антигенів та секреція інтерлейкінів. Як видно із таблиці 3.21, абсолютна кількість Т-хелперів у крові новонароджених телят є досить низькою і складає 0,84–0,86 Г/л. Однак уже впродовж першого тижня життя їх вміст у крові телят контрольної групи збільшується на 36 % ( $p<0,001$ ). Із 7 до 14 доби життя телят вміст Т-хелперів у їхній крові збільшується ще на 25,6 % ( $p<0,001$ ), після чого до кінця дослідного періоду достовірно не змінюється, однак прослідковується чітка тенденція щодо його збільшення.

Таблиця 3.21

**Кількість Т-хелперів у крові телят за застосування трансфер-фактора, Г/л  
( $M\pm m$ ,  $n=5$ )**

Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	0,86 $\pm$ 0,05	1,17 $\pm$ 0,07	1,47 $\pm$ 0,07	1,58 $\pm$ 0,05
I дослідна	0,84 $\pm$ 0,08	1,61 $\pm$ 0,03***	1,62 $\pm$ 0,08	1,64 $\pm$ 0,04
II дослідна	0,85 $\pm$ 0,05	1,71 $\pm$ 0,04***	1,59 $\pm$ 0,11	1,65 $\pm$ 0,08

Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .

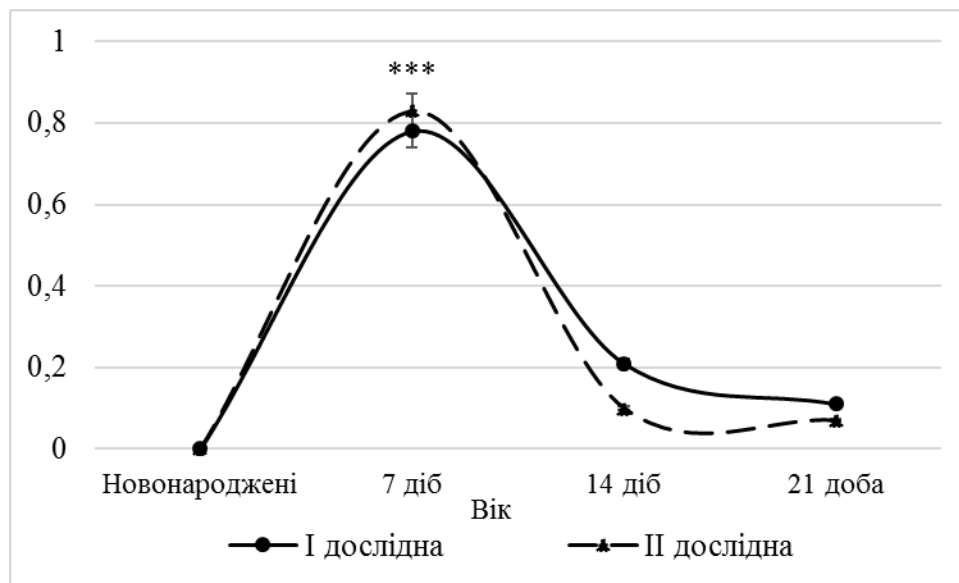
Проведеними дослідженнями встановлено стрімке збільшення кількості Т-хелперів у крові телят I дослідної групи впродовж першого тижня життя у 1,92 раза ( $p<0,001$ ). Тому, у 7-добових телят I дослідної групи кількість Т-хелперів у крові вище на 37,6 % ( $p<0,001$ ) від показників тварин контрольної групи на цьому етапі досліджень. Не зважаючи на те, що кількість Т-хелперів у крові телят I дослідної групи із 7 до 14 доби життя достовірно не змінюється, вона все-таки залишається вище на 10,2 % від такої у тварин контрольної групи.

Кількість Т-хелперів у крові телят II дослідної групи від народження до 7 доби життя збільшується у два рази ( $p<0,001$ ) і стає вище на 42,6 % ( $p<0,001$ ) від показників тварин контрольної групи та на 6,2 % від показників, що



спостерігались у тварин I дослідної групи. Не зважаючи на те, що із 7 до 14 доби життя у телят II дослідної групи вміст Т-хелперів у крові знижується на 7 %, він все-таки вище на 8,2 % від такого у тварин контрольної групи, хоча і у межах тенденції. Слід відмітити чітку тенденцію більшої кількості Т-хелперів у крові тварин дослідних груп на 14 та 21 добу досліджень.

Вплив введення трансфер-фактора на кількість Т-хелперів у крові телят наведений на рис. 3.20. Встановлено, що введення трансфер-фактора проявляло достовірний вплив на кількість В-лімфоцитів тільки через 7 діб після народження.



**Рис. 3.20. Вплив застосування трансфер-фактора на кількість Т-хелперів у крові телят,  $\eta^2$  (n=5)**

Примітка. Різниця достовірна за: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$ .

Встановлено, що сила впливу трансфер-фактора на кількість Т-лімфоцитів у 7-добових телят I і II дослідної групи відповідно становила  $\eta^2=0,78$  ( $p<0,001$ ) та  $\eta^2=0,83$  ( $p<0,001$ ).

Т-супресори відносяться до субпопуляції Т-клітин, що пригнічують гуморальну та клітинну ланки імунної відповіді. Проведеними дослідженнями встановлено, що новонароджені телята характеризуються низьким абсолютним вмістом кількості Т-супресорів у крові ( $0,26\pm0,02$  Г/л). Однак, від народження до 7 доби життя кількість Т-супресорів у крові тварин контрольної групи

збільшується на 46,2 % ( $p<0,001$ ), а із 7 до 14 доби життя – ще на 23,7 % ( $p<0,001$ ). Надалі із 14 до 21 доби життя телят контрольної групи кількість Т-супресорів у крові збільшується ще на 12,8 % (табл. 3.22).

Таблиця 3.22

**Кількість Т-супресорів у крові телят за задавання трансфер-фактора, Г/л  
( $M\pm m$ ,  $n=5$ )**

Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	0,26 $\pm$ 0,01	0,38 $\pm$ 0,02	0,47 $\pm$ 0,03	0,53 $\pm$ 0,07
I дослідна	0,26 $\pm$ 0,02	0,49 $\pm$ 0,04*	0,50 $\pm$ 0,04	0,55 $\pm$ 0,08
II дослідна	0,26 $\pm$ 0,01	0,50 $\pm$ 0,07*	0,49 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,05

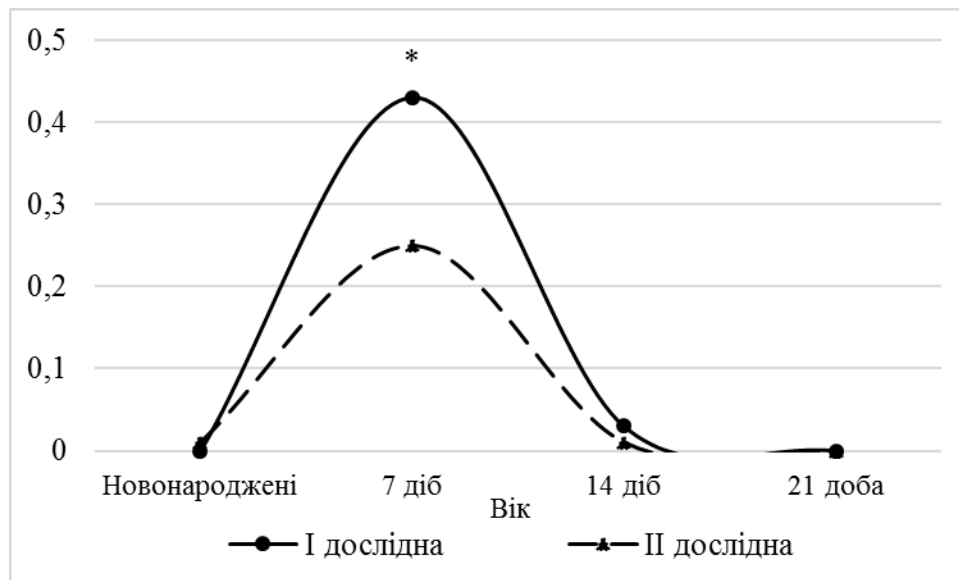
Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .

Задавання новонародженим телятам трансфер-фактора виділеного із молозива несенсибілізованих корів сприяє зростанню абсолютного вмісту Т-супресорів у крові. Зокрема, від народження до 7-добового віку кількість Т-супресорів у крові телят I дослідної групи збільшується на 88,5 % ( $p<0,001$ ) і стає вищою на 28,9 % ( $p<0,05$ ) від показника тварин контрольної групи на цьому етапі досліджень. Надалі із 7 до 21 доби життя телят кількість Т-супресорів достовірно не змінюється, однак встановлено чітку тенденцію щодо вищої їхньої кількості (у межах 2–4 %) від показників тварин контрольної групи.

Аналіз отриманих результатів вказує на те, що задавання телятам трансфер-фактора, отриманого із лімфоцитів молозива, сенсibiliзованих корів сприяє збільшенню абсолютної кількості Т-супресорів у крові до 7 доби життя у 1,92 раза ( $p<0,001$ ), внаслідок чого даний показник стає вище на 31,6 % ( $p<0,05$ ) від такого у тварин контрольної групи на цьому етапі досліджень. Із 7 до 14 доби життя кількість Т-супресорів у крові телят II дослідної групи достовірно не змінюється, однак залишається вище на 4,3 % від показника тварин контрольної групи. Слід відмітити, що із 14 до 21 доби досліджень кількість Т-супресорів у крові телят II дослідної групи показує тенденцію до збільшення (зростає на

10,2 %), однак достовірно не різняться із показниками тварин інших дослідних груп.

Проведені дослідження свідчать, що введення новонародженим телятам трансфер-фактора сприяє становленню достовірного впливу на кількість Т-супресорів у крові телят до 7 доби життя залежно від рівня сенсibilізації організму корів донорів трансфер-фактора (рис. 3.21).



**Рис. 3.21. Вплив введення трансфер-фактора на кількість Т-супресорів у крові телят,  $\eta^2$  ( $n=5$ )**

Примітка. Різниця достовірна при: \* –  $p<0,05$ .

Встановлено достовірну силу впливу введення трансфер-фактора отриманого із молозива несенсибілізованих корів на кількість Т-супресорів у крові 7-добових телят ( $\eta^2=0,43$ ;  $p<0,05$ ), однак, уже до 14-добового віку вплив введення трансфер-фактора на кількість Т-супресорів є недостовірним ( $\eta^2=0,03$ ) і не проявляється до кінця дослідного періоду.

Вплив введення трансфер-фактора отриманого із молозива сенсibilізованих корів на кількість Т-супресорів у крові 7-добових телят є недостовірний ( $\eta^2=0,25$ ).

Проведені дослідження свідчать про достовірний вплив введення трансфер-фактора на вміст різних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові телят від народження до 21-денного віку (табл. 3.23). Зокрема, встановлено достовірний

вплив постнатальної адаптації на кількість Т-хелперів ( $F=85,21 > F_U=2,8$ ;  $p=3,07E-19$ ) і Т-супресорів ( $F=23,4 > F_U=2,8$ ;  $p=2,21E-09$ ).

Таблиця 3.23

**Двофакторний дисперсійний аналіз вмісту субпопуляцій  
Т-лімфоцитів у крові телят у період постнатальної адаптації  
за введення трансфер-фактора**

Джерело варіації	SS	df	MS	F	P- значення	F критичне
Т-хелпери						
Постнатальна адаптація	5,76	3	1,92	85,21	3,07E-19	2,80
Трансфер- фактор	0,40	2	0,20	8,79	0,001	3,19
Взаємозв'язок	0,51	6	0,08	3,76	0,004	2,29
Внутрішня	1,08	48	0,02			
Всього	7,75	59				
Т-супресори						
Постнатальна адаптація	0,67	3	0,22	23,04	2,21E-09	2,80
Трансфер- фактор	0,02	2	0,01	0,96	0,391	3,19
Взаємозв'язок	0,02	6	0,00	0,42	0,859	2,29
Внутрішня	0,46	48	0,01			
Всього	1,17	59				

Проведені дослідження свідчать, що застосування трансфер-фактора чинить достовірний вплив лише на вміст Т-хелперів у крові телят ( $F=8,79 > F_U=3,19$ ;  $p=0,001$ ), тоді, як вплив застосування трансфер-фактора на кількість Т-супресорів є недостовірний ( $F=0,01 < F_U=0,96$ ;  $p=0,859$ ).

Обрахунок впливу постнатальної адаптації та трансфер-фактора на вміст Т-хелперів показав достовірну взаємодію факторів впливу ( $F=3,76 > F_U=2,29$ ;  $p < 0,004$ ), тобто, трансфер-фактор безпосередньо впливає на швидкість постнатальної адаптації тварин.

Імунорегуляторний індекс (ІРІ) крові визначає співвідношенням рівнів  $CD4^+$  до  $CD8^+$  Т-лімфоцитів і його значні коливання свідчить про неадекватність імунної реакції в організмі. Проведеними дослідженнями встановлено, що показник ІРІ у крові телят коливається в фізіологічних межах – 3,0–3,7 у.о. (табл. 3.24).

Таблиця 3.24

**Імунорегуляторний індекс крові телят за задавання трансфер-фактора,  
у. о. ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	3,32±0,07	3,04±0,05	3,12±0,15	3,21±0,44
I дослідна	3,23±0,12	3,33±0,22	3,30±0,17	3,25±0,47
II дослідна	3,23±0,13	3,65±0,41*	3,27±0,13	3,15±0,34

Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .

Встановлено зниження ІРІ крові телят контрольної групи на 8,4 % ( $p<0,05$ ) від народження до 7 доби життя. Із 7 до 21 доби життя телят ІРІ достовірно не змінюється, однак прослідковується чітка тенденція щодо його збільшення (на 5,6 %).

Застосування трансфер-фактора отриманого із молозива несенсибілізованих корів сприяло зростанню відношення Т-хелперів до Т-супресорів від народження до 7 доби життя на 3,1 %, внаслідок чого він стає вище на 9,5 % від такого у тварин контрольної групи на цьому етапі досліджень. Із 7 до 21 доби життя індекс ІРІ крові у телят I дослідної групи дещо знижується (на 2,4 %), однак достовірно не відрізняється від показників тварин контрольної групи.

Дослідженнями встановлено, що використання трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива сенсибілізованих корів сприяло зростанню індексу відношення Т-хелперів до Т-супресорів від народження до 7 доби життя на 13,0 %. Внаслідок цього даний показник у тварин II дослідної групи стає вище

відповідно на 20,1 % ( $p<0,05$ ) і 9,6 % від такого у тварин контрольної та I дослідної групи на цьому етапі досліджень. Із 7 до 14 доби життя індекс ІРІ крові у телят II дослідної групи знижується на 10,4 % ( $p<0,05$ ) і перестає достовірно відрізнятись від показників тварин контрольної та I дослідної групи до кінця дослідного періоду.

Таким чином, отримані результати досліджень вказують на вплив постнатальної адаптації та рівня забезпеченості трансфер-фактором на вміст різних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові телят. Встановлено, що у новонароджених телят низька кількість Т-хелперів і Т-супресорів у крові, яка впродовж перших трьох тижнів життя значно зростає. Встановлено достовірну силу вплив введення трансфер-фактора новонародженим телятам на абсолютну кількість Т-хелперів і супресорів у їхній крові, що проявляється достовірним збільшенням їхньої кількості у крові 7-добових телят. Встановлено вплив трансфер-фактора на швидкість постнатальної адаптації телят.

### **3.3.10. Вплив трансфер-фактора на фагоцитарну активність та фагоцитарний індекс крові телят**

Фагоцитарна активність (ФА) нейтрофілів займає провідне місце серед усіх факторів неспецифічної резистентності організму новонароджених телят. Результати наших досліджень свідчать, що у новонароджених телят всіх дослідних груп ФА нейтрофілів пригнічена, і становить в середньому – 35–36 % (табл. 3.25). Від народження до 7 доби життя ФА нейтрофілів крові телят контрольної групи збільшується на 18,7 % ( $p<0,001$ ), однак залишається на досить низькому рівні –  $42,4\pm0,4$  %. Із 7 до 14 доби життя телят ФА нейтрофілів збільшується ще на 10,1 % ( $p<0,01$ ), після чого її зростання до 21 доби життя (на 3,2 %) має характер тенденції.

Проведеними дослідженнями встановлено, що ФА нейтрофілів крові телят I дослідної групи від народження до 7 доби життя збільшується на 37 % і стає достовірно більшою від показників тварин контрольної групи (на 13,0 %;  $p<0,001$ ). Із 7 до 14 доби життя ФА нейтрофілів крові телят I дослідної групи

незначно зростає (на 4,9 %), після чого істотно не змінюється до кінця дослідного періоду. Слід відмітити тенденцію щодо вищої ФА нейтрофілів крові у телят І дослідної групи на 7 і 21 добу (на 4–8 %) від такої у телят контрольної групи.

Таблиця 3.25

**Фагоцитарна активність нейтрофілів крові телят за задавання трансфер-фактора, % ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

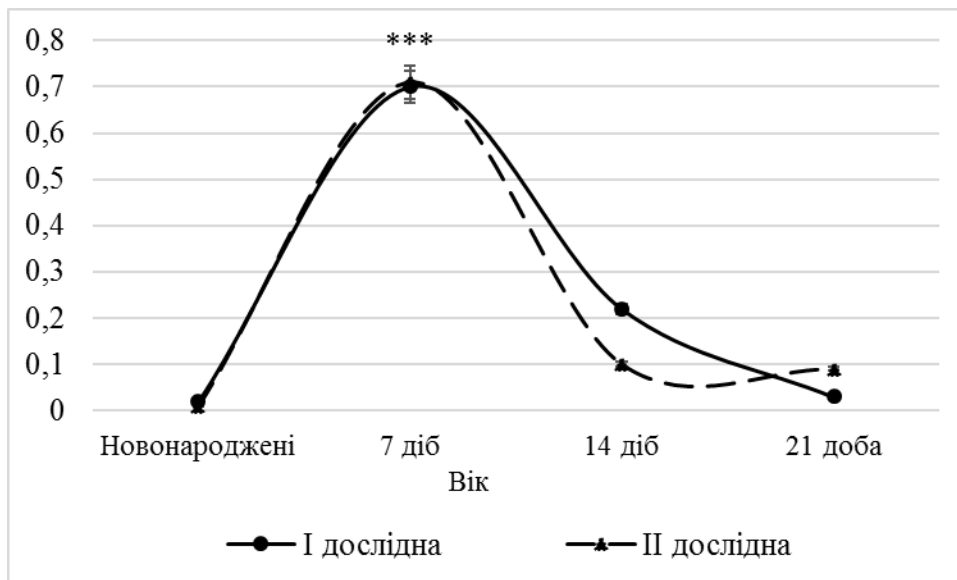
Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 діб	14 діб	21 доба
Контрольна	35,7±1,4	42,4±0,4	46,7±0,8	48,1±2,0
І дослідна	35,0±1,5	47,9±1,2***	50,3±2,3	49,9±2,8
ІІ дослідна	35,2±1,3	51,1±1,9***	49,8±3,2	50,7±2,0

Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .

ФА нейтрофілів крові телят ІІ дослідної групи від народження до 7 доби життя збільшується на 45,2 % ( $p<0,001$ ) і стає вищою відповідно на 20,5 % ( $p<0,001$ ) та 6,6 % від показників тварин контрольної та І дослідної групи. Надалі до 3-тижневого віку ФА нейтрофілів крові у телят ІІ дослідної групи достовірно не змінюється, однак залишається вище на 5–7 % від показників тварин контрольної групи.

Проведеними дослідженнями встановлено достовірну силу впливу введення трансфер-фактора на ФА нейтрофілів крові телят (рис. 3.22). Незалежно від рівня сенсibilізації організму донорів трансфер-фактора, його введення новонародженим телятам сприяє становленню достовірного впливу на ФА нейтрофілів крові телят до 7 доби життя ( $\eta^2=0,70-0,71$ ;  $p<0,001$ ).

Встановлено, що із 7 до 14 доби життя у телят обох дослідних груп сила впливу введення трансфер-фактора на ФА нейтрофілів істотно знижується та стає недостовірною –  $\eta^2=0,10-0,22$ .



**Рис. 3.22. Вплив введення трансфер-фактора на фагоцитарну активність нейтрофілів у крові телят,  $\eta^2$  (n=5)**

Примітка. Різниця достовірна за: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$ .

Фагоцитарний індекс (ФІ) виражає кількості мікробних клітин захоплених при фагоцитозі одним активним фагоцитом, тому низький показник ФІ у новонароджених телят (3,5–3,6 у.о.) виражає відносну незрілість клітинної ланки імунного захисту тварин (табл. 3.26). Слід відмітити, що показник ФІ нейтрофілів крові новонароджених телят контрольної та дослідних груп достовірно не відрізнявся. У телят контрольної групи після народження до 7 доби життя ФІ нейтрофілів у крові збільшується на 12,7 % ( $p<0,05$ ), а впродовж наступних двох тижнів – ще на 20,9 % ( $p<0,01$ ).

*Таблиця 3.26*

**Фагоцитарний індекс нейтрофілів крові телят за задавання трансфер-фактора, у. о. ( $M\pm m$ , n=5)**

Група телят	Вік телят			
	Новонароджені	7 дiб	14 дiб	21 доба
Контрольна	3,61±0,14	4,07±0,24	4,18±0,30	4,92±0,26
I дослідна	3,57±0,16	4,78±0,27**	4,77±0,09*	4,87±0,22
II дослідна	3,45±0,15	5,03±0,21***	4,99±0,16*	5,21±0,25

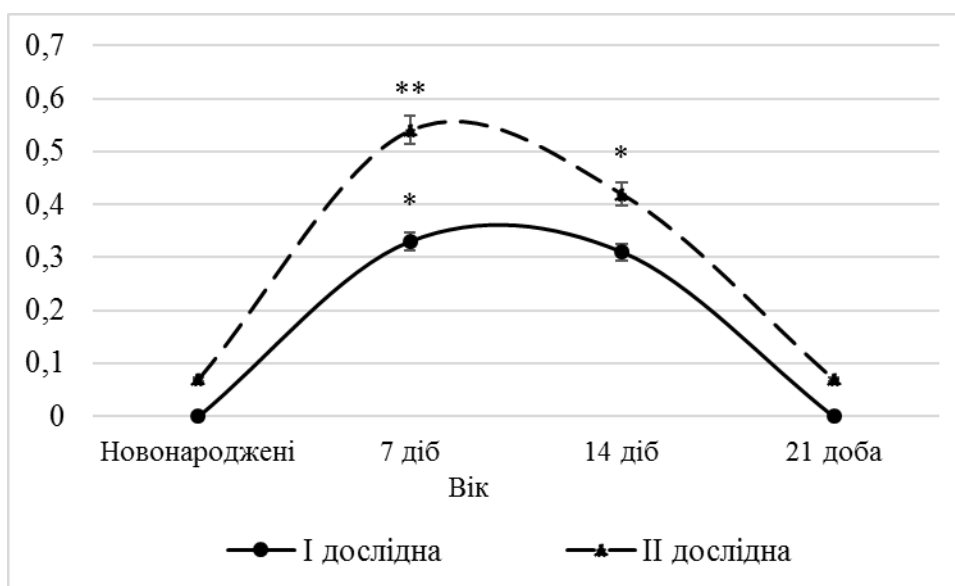
Примітка. Різниця достовірна за\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .



Встановлено, що ФІ нейтрофілів крові телят І дослідної групи після народження до 7 доби життя збільшується на 33,9 % ( $p<0,001$ ) і стає вищим від показників тварин контрольної групи на 17,4 % ( $p<0,01$ ). Із 7 до 21 доби життя у телят І дослідної групи ФІ нейтрофілів крові достовірно не змінюється. Однак, слід відмітити вищий показник ФІ нейтрофілів у 14-добових тварин І дослідної групи на 14,1 % відповідно до показників телят контрольної групи на цьому етапі досліджень.

ФІ нейтрофілів крові телят ІІ дослідної групи від народження до 7 доби життя збільшується на 45,8 % ( $p<0,001$ ) і стає вищим на 23,6 % ( $p<0,001$ ) та 5,2 % відповідно до показників тварин контрольної та І дослідної групи. Надалі до 14 доби життя телят даний показник хоча і не змінюється, однак залишається вищим на 19,4 % ( $p<0,05$ ) та 4,6 % від показників тварин контрольної та І дослідних груп. Тенденція щодо вищого ФІ нейтрофілів крові телят ІІ дослідної групи прослідковується до кінця дослідного періоду.

Встановлено достовірну силу впливу введення трансфер-фактора на показник ФІ нейтрофілів крові телят (рис. 3.23). При чому, сила впливу введення трансфер-фактора на ФІ залежала від рівня сенсibilізації організму тварин-донорів трансфер-фактора.



**Рис. 3.23. Вплив введення трансфер-фактора на фагоцитарний індекс нейтрофілів крові телят,  $\eta^2$  ( $n=5$ )**

Примітка. Різниця достовірна за: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$ .

Введення новонародженим телятам трансфер-фактора виділеного із молозива несенсибілізованих корів сприяло становленню достовірної сили впливу до 7-добового віку ( $\eta^2=0,33$ ;  $p<0,05$ ), яка до 14-добового віку хоча й сягає  $\eta^2=0,31$ , однак є недостовірною та повністю зникає до 21-добового віку.

Натомість задавання новонародженим телятам трансфер-фактора виділеного із молозива сенсибілізованих корів сприяло становленню сили впливу до 7 доби життя телят ( $\eta^2=0,54$ ;  $p<0,01$ ), яка до 14 доби життя дещо знижується (до показника –  $\eta^2=0,42$ ;  $p<0,05$ ), однак залишається достовірною і зникає лише до 21 доби життя.

Проведеними дослідженнями встановлено достовірний вплив введення трансфер-фактора на ФА та ФІ нейтрофілів крові телят до 3-тижневого віку (табл. 3.27). Зокрема, встановлено достовірний вплив постнатальної адаптації на ФІ нейтрофілів ( $F=26,6>F_U=2,8$ ;  $p=2,82E-10$ ) та ФА нейтрофілів ( $F=37,4>F_U=2,8$ ;  $p=1,32E-12$ ).

Таблиця 3.27

**Двофакторний дисперсійний аналіз фагоцитарного індексу та фагоцитарної активності нейтрофілів телят за введення трансфер-фактора**

Джерело варіації	SS	df	MS	F	P-значення	F критичне
Фагоцитарний індекс						
Постнатальна адаптація	17,97	3,00	5,99	26,58	2,82E-10	2,80
Трансфер-фактор	2,32	2,00	1,16	5,15	0,009	3,19
Взаємозв'язок	2,35	6,00	0,39	1,74	0,133	2,29
Внутрішня	10,82	48,00	0,23			
Всього	33,45	59,00				
Фагоцитарна активність						
Постнатальна адаптація	2021,30	3,00	673,77	37,37	1,32E-12	2,80
Трансфер-фактор	127,47	2,00	63,73	3,53	0,037	3,19
Взаємозв'язок	121,59	6,00	20,26	1,12	0,362	2,29
Внутрішня	865,53	48,00	18,03			
Всього	3135,88	59,00				

Застосування трансфер-фактора чинить відносно нижчий вплив на ФА нейтрофілів крові телят ( $F=3,5 > F_{U=3,2}$ ;  $p=0,037$ ), та сильніший вплив на ФІ нейтрофілів ( $F=5,1 > F_{U=3,2}$ ;  $p=0,009$ ). Достовірної міжфакторної взаємодії під час цього обрахунку не встановлено.

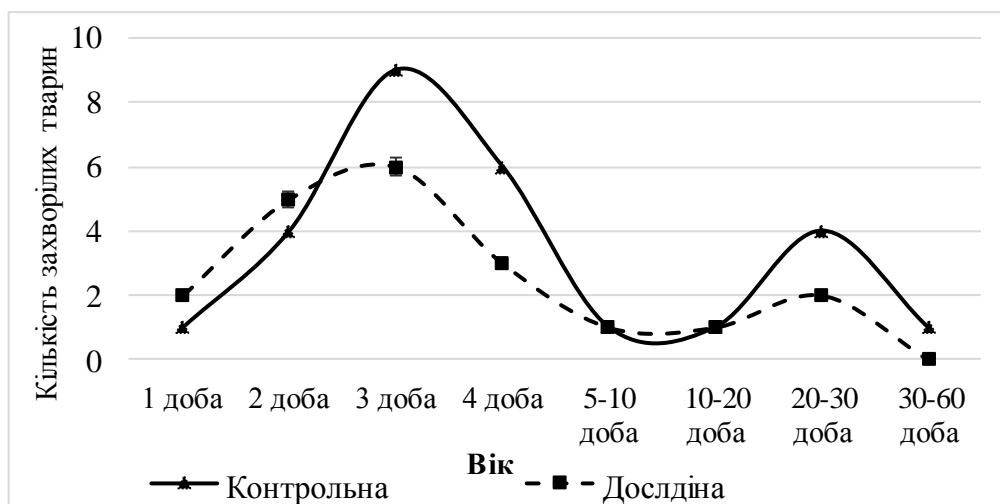
Отже, проведені нами дослідження свідчать про істотний вплив постнатальної адаптації та рівня забезпеченості трансфер-фактором на ФА та ФІ нейтрофілів крові новонароджених телят. Встановлено, що у новонароджених телят ФА та ФІ нейтрофілів є низькими. Введення трансфер-фактора новонародженим телятам сприяє зростанню ФА і ФІ нейтрофілів крові телят.

### **3.4. Випробування ефективності застосування трансфер-фактора з профілактичною та лікувальною метою за шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят**

Випробування ефективності застосування трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива сенсibiliзованих корів, здійснювали у СТОВ «Колос» Ічнянського району. Господарство тривалий час було неблагополучним по шлунково-кишкових захворюваннях новонароджених телят. На момент проведення досліджень господарство було неблагополучне щодо сальмонельозу. Проведені нами дослідження свідчать, що у цьому господарстві хвороби травного каналу реєструється у 95 % телят від народження до двомісячного віку. Найбільш часто реєстрували хвороби з ознаками шлунково-кишкових розладів, причому, пік захворюваності припадав на другу добу життя телят, коли клінічні прояви шлунково-кишкових захворювань реєстрували у кожного третього теляти, а другий пік захворюваності був пов'язаний із розвитком сальмонельозної інфекції. Слід відмітити, що, не зважаючи на проведену дворазову імунізацію тільних корів від збудника сальмонельозу, до 14 % всіх телят у господарстві захворювали на сальмонельоз. Сальмонельоз розвивався лише у телят, які раніше перехворіли на шлунково-кишкові захворювання.

Для профілактики і терапії захворювань травного каналу новонароджених телят у господарстві використовували етіотропні, регідратантні та нормалізуючі

мікробний біоценоз кишечника засоби. Проте у 20 % дводобових телят проявились клінічні прояви шлунково-кишкових захворювань (рис. 3.24). На 3, 4 і 5 добу життя у телят контрольної групи клінічні прояви захворювання проявились відповідно у 45 %, 30 % та 5 % телят. Однак, із 20- до 30-добового віку четверо телят захворіли на сальмонельоз, що склало 20 % від загального числа тварин у групі.



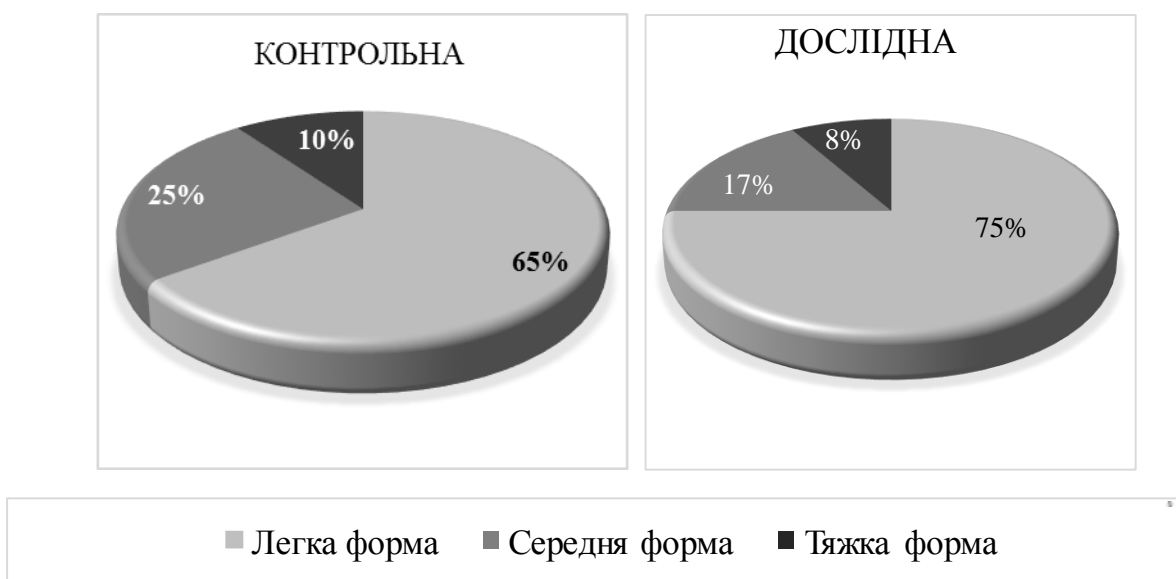
**Рис. 3.24. Ефективність профілактики захворювань травного каналу у телят (n=20)**

Додаткове введення трансфер-фактора до комплексу профілактичних і терапевтичних заходів сприяє істотному підвищенню їхньої ефективності.

Встановлено, що серед тварин дослідної групи від народження до 5-добового віку щоденно реєстрували лише від 1 до 5 телят із клінічними проявами шлунково-кишкових захворювань, що складало 5–25 % від загального числа тварин у групі. Із 10- до 20-добового віку лише у одного теляти виявлено клінічні прояви захворювання травного каналу. На сальмонельоз захворіло лише двоє телят у віці 18 та 25 діб (це 10 % від усіх тварин у групі), однак, ці телята раніше перехворіли на шлунково-кишкові захворювання.

Як видно із рисунку 3.25, 65 % хворих телят контрольної групи перехворіли легкою формою захворювання, 25 % – середньою, і лише 10 % – тяжкою формою хвороби. Отже, використання етіотропних, регідратантних та

нормалізуючих мікробний біоценоз кишечника засобів сприяло не тільки зниженню частоти виявлення захворювань травного каналу в телят, а й більш легкому їх перебігу.



**Рис. 3.25. Перебіг захворювань травного каналу у телят впродовж першого тижня життя залежно від проведених профілактичних заходів (n=20)**

Проведеними дослідженнями встановлено, що використання трансфер-фактора в більшій мірі полегшує перебіг хвороб травного каналу в телят, ніж використання схеми лікування і профілактики застосованої в господарстві. Зокрема, 75 % хворих телят дослідної групи перехворіли легкою формою диспепсії, 17 % – середньою і 8 % – тяжкою. Тривалість перебігу хвороб травного каналу в телят першого тижня життя істотно залежала від проведених лікувально-профілактичних заходів.

Зокрема, використання етіотропних, регідратантних та нормалізуючих мікробний біоценоз кишечника засобів сприяло не лише полегшенню перебігу хвороби, але й швидшому видужуванню тварин. Так, 25 % хворих телят контрольної групи видужали уже на другу добу лікування, 20 % – на третю добу і 40 % – на четверту добу.

Встановлено, що додаткове задавання трансфер-фактора мало більш виражений терапевтичний ефект, зокрема, уже на другу добу лікування видужало 50 % хворих тварин, а ще 20 % – на третю добу лікування.

Використання базової схеми лікування захворювань травного каналу в цьому господарстві виявилось ефективним. Встановлено, що застосування етіотропних, симптоматичних та регулюючих мікробіоценоз кишечника засобів, як окремо, так у комплексі із трансфер-фактором сприяло істотному зростанню збереженості тварин. Смертність телят контрольної та дослідної груп була лише 10 % та 5 % відповідно (загинуло двоє телят у контрольній та одне теля у дослідній групі), внаслідок чого індекс збереження телят у дослідних групах становив відповідно 90 та 95 % (рис. 3. 27).



**Рис. 3.27. Терапевтична ефективність проведених лікувально-профілактичних заходів (n=20)**

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що застосування трансфер-фактора, отриманого із молозива сенсibilізованих корів (до збудника сальмонельозу), у комплексі із антидегідратаційними та антимікробними засобами сприяє підвищенню резистентності телят, зниженню їхньої захворюваності хворобами травного каналу, більш легкому перебігу хвороб, швидшому видужанню та істотному зниженню летальності. Результати цього підрозділу були опубліковані в працях [170, 177, 178].

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Загальновідомо, що взаємодоповнююча дія клітинної та гуморальної ланки імунного захисту оберігає організм всіх хребетних від патологічних чинників, як екзо- так і ендогенного походження. В останній час дослідники в більшій мірі при корекції імунітету тварин звертають увагу на гуморальну ланку імунітету, однак, слід мати на увазі, що всі гуморальні реакції мають під собою клітинну основу [41]. Клітино-опосередковані імунні реакції забезпечуються специфічно сенсibilізованими (після впливу антигену) Т-лімфоцитами, що мають специфічні рецептори до тих чи інших антигенів [55]. Фактор сенсibilізованих лімфоцитів може переносити стан сенсibilізації на несенсibilізовані лімфоцити [78]. Отже, у формуванні імунної відповіді бере участь великий комплекс імунокомпетентних клітин, в результаті чого синтезуються медіатори імунної системи, що беруть участь в міжклітинних взаємодіях.

Так, як трансфер-фактор є модулятором клітинного імунної відповіді, то його препарати можна ефективно застосовувати для стимуляції клітинної ланки імунітету людей і тварин. Препарати трансфер-фактора на основі діалізного екстракту лейкоцитів здатні індукувати імунореактивність у несенсibilізованих реципієнтів та проявляти як ендогенні аффінітини, вступаючи у пряму взаємодію з поверхневими структурами збудника, блокуючи його адгезію [41]. Хоча природа та механізм дії трансфер-фактора повністю не вивчено, препарати на його основі знаходять широке застосування в медицині [71].

На сьогодні є нагальність вивчення передачі клітинного імунітету з допомогою трансфер-фактора обумовлена здатністю трансфер-фактора забезпечити захист організму від захворювань, викликаних різними інфекційними агентами. Відсутність видового бар'єру препаратів трансфер-фактора визначають їх універсальність для будь-якого виду тварини і людини. Препарати трансфер-фактора не володіють антигенними властивостями і не

токсичні, тому їх застосування безпечне. Імунітет розвивається по типу гіперчутливості уповільненого типу і зберігається від декількох місяців до двох років. Всі представлені дані говорять про необхідність вивчення передачі клітинно-опосередкованого імунітету за допомогою лімфоцитів, отриманих від сенсibilізованих організмів.

З огляду на низьку ефективність існуючих засобів специфічної профілактики більшості інфекційних захворювань тварин, зокрема й сальмонельозу, застосування препаратів на основі діалізного екстракту лейкоцитів є актуальним. Тому, метою нашої роботи було удосконалити метод отримання трансфер-фактора на основі клітин молозива сенсibilізованих до збудника сальмонельозу корів, дослідити його адаптогенну активність та ефективність у профілактиці і лікуванні хвороб травного каналу новонароджених телят.

Для виконання поставленої мети було проведено дві серії досліджень. У першій серії досліджень удосконалено методику виділення діалізного екстракту лейкоцитів із молока та молозива корів та встановлено вплив рівня сенсibilізації організму донорів трансфер-фактора на його імунобіологічні властивості. Як тварин-донорів використовували імунізованих (одноразово – I дослідна група, дворазово – II дослідна група) корів української чорно-рябої молочної породи. Імунізацію тільних корів здійснювали концентрованою формол-галуневою вакциною проти сальмонельозу телят.

Проведені дослідження показали, що дворазове введення вакцини тільним коровам на істотно вищому рівні сприяє сенсibilізації організму тварин, що в свою чергу підвищує якісні показники трансфер-фактора виділеного із молозива цих тварин. Так, інгібіція міграції лейкоцитів мишей після внесення специфічного антигену в суспензіях лейкоцитів, інкубованих з препаратом трансфер-фактора виділеного із лімфоцитів дворазово імунізованих корів становила  $67,0 \pm 3,2$  %, натомість за одноразової імунізації тварин –  $73,8 \pm 4,0$  %.

Аналіз літературних даних свідчить, що наявні сьогодні на ринку вакцини якісно відрізняються та по різному впливають на імунну систему організму



тварин [191]. Позитивна їх дія повинна проявлятися у активізації і підвищенні факторів імунітету, але деякі препарати здатні впливати супресивно, викликаючи імунодефіцит за рахунок певних ланок імунної системи [174]. Слід відмітити, що одноразова імунізація тільних корів істотно не впливала на морфологічні показники крові, зокрема, встановлено лише тенденцію щодо збільшення кількості лейкоцитів, еритроцитів та зміни лейкограми. Натомість дворазова імунізація тварин сприяла становленню тенденції щодо зниження кількості лейкоцитів та достовірному зростанню кількості еритроцитів ( $p < 0,01$ ) у крові тварин.

Імунізація тварин сприяє зсуву захисних систем організму у бік гуморальної його ланки [107], на що вказує зростання показника лейкоцитарного індексу [145]. Зокрема, показник лейкоцитарного індексу крові тільних корів після одноразової імунізації підвищується на 22,9 % ( $p < 0,05$ ), а у тварин яких імунізували дворазово – лише на 8 %.

Відома властивість більшості вакцин проявляти супресорну дію, свідченням чого є зміни імунологічних та біохімічних показників тварин [191]. Встановлено достовірне зниження вмісту глюкози та креатиніну у крові тільних корів не залежно від рівня сенсibiliзації організму на 13–28 % ( $p < 0,05–0,01$ ) та тенденцію щодо зниження вмісту загального білка, що вказує на порушення обміну речовин у організмі тварин. Підвищення активності трансаміназ в сироватці крові тільних корів після вакцинації у 1,3–1,5 рази ( $p < 0,05–0,001$ ) слід розглядати як деструктивні зміни у гепатоцитах печінки тварин.

Таким чином, встановлено, що дворазова імунізація тільних корів у більшій мірі сприяє сенсibiliзації організму тварин, причому, супресивний вплив дворазового введення вакцини від сальмонельозу телят істотно не різниться, а подекуди і менший, ніж від одноразової імунізації організму тільних корів.

Наступним етапом наших досліджень було удосконалити метод виділення діалізного екстракту лейкоцитів із молозива та молока імунізованих корів.

Встановлено, що для отримання ДЕЛ краще використовувати молозиво, ніж молоко, у зв'язку із значно більшим вмістом лейкоцитарних клітин (у 12–15 разів).

У процесі отримання активного трансфер-фактора із сенсibilізованих лімфоцитів велику роль відіграє гомогенність клітинної суспензії [130]. Для виділення суспензії лімфоцитів із молозива у якості роздільного розчину встановлено більшу доцільність використання сахарози з урографіном.

Основною характеристикою препаратів трансфер-фактора є їх властивість переносити реакції гіперчутливості сповільненого типу від імунних донорів інтактним реципієнтам [41]. Властивість трансфер-фактора переносити гіперчутливість сповільненого типу здійснювали за допомогою шкірної проби та реакції інгібіції міграції лейкоцитів. За моделювання реакції ГСТ у сенсibilізованих реципієнтів (білі миші) у відповідь на введення алергену впродовж доби товщина шкірної складки збільшується у 1,64 раза ( $p < 0,001$ ) і залишається достовірно вище ( $p < 0,001$ ) від показника мишей контрольної групи впродовж 96 годин. Причому максимальна товщина шкірної складки у мишей спостерігалась через 48 годин після введення алергену. Результати реакції ІМЛ вказують на пригнічення міграції лейкоцитів при контакті із сальмонельозним антигеном, так, індекс міграції сягав показника – 52,2 %.

Окрім здатності отриманого ДЕЛ переносити ГСТ інтактним реципієнтам, результати реакції ІМЛ та шкірної проби свідчать про міжвидову передачу *in vitro* імунокомпетентним клітинам стану сенсibilізації до збудника сальмонельозу.

Організм тварин у процесі внутрішньоутробного розвитку продукує клітини, які здійснюють фагоцитоз і молекули з вираженим протимікробним ефектом – лізоцим, комплемент, пропердин, та інші фактори природної резистентності [132]. Імунологічна реактивність у новонароджених телят формується поступово і досягає повноцінної виразності лише на певному рівні їхнього індивідуального фізіологічного розвитку [141]. Проведеними дослідженнями встановлено істотні відмінності стану природної резистентності у новонароджених телят. Так, у новонароджених телят встановлено лейкоцитоз,

лімфоцитопенія та нейтрофілоцитоз. Причому, знижений вміст лімфоцитів у крові проходить пропорційно за рахунок всіх їх класів.

Наші дослідження узгоджуються із даними інших дослідників, які зокрема зазначають, що неонатальний період онтогенезу в телят відбувається значна перебудова в метаболізмі [157].

У більшості випадків під час проведення експерименту доводиться мати справу з великою кількістю змінних, тому важко описати результат лише за впливу однієї змінної. У нашому випадку за моделювання впливу трансфер-фактора на імунологічну реактивність новонароджених телят необхідно було брати до уваги вплив постнатальної адаптації на дослідні показники крові тварин. Багатофакторний дисперсійний аналіз дозволив оцінити взаємозв'язок і вплив декількох факторів на окремий показник [127]. Отримані нами результати двофакторного дисперсійного вказують на суттєвий вплив перебігу постнатальної адаптації телят на кількість лімфоцитів ( $F=4,41>F_U=3,40$ ;  $p=0,023$ ), Т-лімфоцитів ( $F=80,8>F_U=2,8$ ;  $p=0,089E-19$ ), Т-активних лімфоцитів ( $F=85,7>F_U=2,8$ ;  $p=0,089E-19$ ), В-лімфоцитів ( $F=82,22>F_U=2,8$ ;  $p=6,28E-19$ ), 0-лімфоцитів ( $F=27,66>F_U=2,8$ ;  $p=0,023$ ), Т-хелперів ( $F=85,21>F_U=2,8$ ;  $p=3,07E-19$ ) і Т-супресорів ( $F=23,4>F_U=2,8$ ;  $p=2,21E-09$ ).

За даними дослідників фагоцитарна здатність лейкоцитів у крові відіграє провідну роль в протимікробному захисті новонародженого теляти [173]. Усі новонароджені до прийому молозива мають досить слабо виражену фагоцитарної захисну реакцію (ФА нейтрофілів становить в середньому – 35–36 %). Відносна незрілість клітинної ланки імунного захисту новонароджених телят підтверджується низьким показником ФІ (3,5–3,6 у.о.). Однак, уже до 21 доби життя телят показник ФА нейтрофілів та ФІ збільшується в середньому на третину ( $p<0,001$ ).

Імунологічна реактивність у новонароджених телят формується поступово і досягає повноцінної виразності лише на певному рівні їх індивідуального фізіологічного розвитку [137]. Встановлено, що клітинна ланка імунного захисту новонароджених телят недостатньо зріла, тому розробка нових

способів підвищення неспецифічної резистентності тварин є актуальним питанням. Тому, у наступному етапі наших досліджень нами було поставлено за мету встановити вплив введення трансфер-фактора на показники неспецифічної резистентності телят.

Проведеним дисперсійним аналізом встановлено, що різний рівень трансфер-фактора, що надходить у організм телят впродовж перших діб життя не лімітує кількість лейкоцитів у їхній крові ( $F=0,63 < F_U=3,41$ ;  $p=0,542$ ), а вплив застосування трансфер-фактора на кількість В-лімфоцитів та 0-лімфоцитів також є недостовірний. Натомість застосування трансфер-фактора чинить істотний вплив на вміст лімфоцитів у крові телят ( $F=4,41 > F_U=3,40$ ;  $p=0,023$ ), зокрема на вміст Т-лімфоцитів ( $F=6,86 > F_U=3,19$ ;  $p=0,002$ ) і Т-активних лімфоцитів ( $F=4,3 > F_U=3,19$ ;  $p=0,019$ ).

Задавання новонародженим телятам препарату на основі трансфер-фактора (не залежно від рівня сенсibiliзації організму тварин-донорів) сприяло збільшенню кількості лейкоцитів у їхній крові впродовж першого тижня життя ( $p < 0,05-0,001$ ). Причому збільшення в основному проходило за рахунок збільшення фракції Т-лімфоцитів (35–42 %;  $p < 0,001$ ) і Т-активних лімфоцитів (47–58 %;  $p < 0,001$ ), ніж В-лімфоцитів (на 21–27 %;  $p < 0,05$ ). Задавання телятам трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива двічі імунізованих корів сприяло збільшенню частки Т-лімфоцитів у крові телят до 7-добового віку на 9,7 % ( $p < 0,001$ ), при чому, частка 0-лімфоцитів відповідно знижувалась на 1,3 % та 7,6 % ( $p < 0,001$ ). Внаслідок такої перебудови зростає індекс відношення Т/В-лімфоцитів до 7 доби життя на 24–25 % ( $p < 0,001$ ). Отже, застосування трансфер-фактора сприяє зсуву балансу між клітинною і гуморальною ланкою імунного захисту у бік збільшення її клітинної ланки, що свідчить про стимулюючий вплив введення трансфер-фактора на імунні реакції клітинного типу.

Проведеними дослідженнями встановлено, що задавання телятам трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива, від сенсibiliзованих корів сприяло зростанню показника лейкоцитарного індексу крові від народження до 7 доби життя у майже 2,7 рази ( $p < 0,001$ ), внаслідок чого даний

показник стає вище на 16–19 % ( $p < 0,05$ – $0,001$ ) від такого у тварин контрольної групи.

Згідно із даних літератури підвищення рівня лейкоцитарного індексу свідчать про посилення рівня ендогенної інтоксикації та активацію розпаду власних, уражених запальним процесом, клітин [176]. Однак, на наш погляд зростання показника лейкоцитарного індексу за впливу трансфер-фактора проходить за стимуляції клітинного імунітету, що підтверджується відсутністю достовірного зсуву ядерного індексу, який вказує на ступінь ендотоксикозу.

На сьогодні механізм впливу трансфер-фактора на процес розеткоутворення ще повністю не з'ясовано, однак, є припущення, що трансфер-фактор містить фрагменти Т-клітин [82, 130], що викликають ефект посилення розеткоутворення [61]. Причому, підвищення афінності лімфоцитів може відбуватися як за рахунок збільшення густини рецепторів на поверхні лімфоцитів, так і за рахунок їх перерозподілу [55]. Проведені нами дослідження свідчать про суттєвий вплив трансфер-фактора на субпопуляційний склад Т-лімфоцитів у крові телят. Так, сила впливу трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива, на кількість Т-хелперів і Т-супресорів у 7-добових телят становила  $\eta^2 = 0,43$ – $0,83$  ( $p < 0,05$ – $0,001$ ). За такого впливу кількість цих клітин крові була вище на 29–43 % ( $p < 0,05$ – $0,001$ ), ніж у тварин контрольної групи. Однак, імунорегуляторний індекс крові достовірно зростає (на 20,1 %;  $p < 0,05$ ) лише за ведення трансфер-фактора отриманого із лімфоцитів молозива сенсibilізованих корів, що визначає зсув у співвідношенні рівнів  $CD4^+$  до  $CD8^+$  Т-лімфоцитів і вказує на неадекватність імунної реакції в організмі [195].

Проведені дослідження свідчать, що застосування трансфер-фактора чинить достовірний вплив лише на вміст Т-хелперів у крові телят ( $F = 8,79 > F_U = 3,19$ ;  $p = 0,001$ ), тоді, як вплив застосування трансфер-фактора на кількість Т-супресорів є недостовірний ( $F = 0,01 < F_U = 0,96$ ;  $p = 0,859$ ). Це можна пояснити тим, що діалізний екстракт лейкоцитів крові тварин містить індукторний фактор, який може зв'язуватись із специфічним антигеном (до якого був отриманий трансфер-фактор) [113], він наявний в Т-хелперах і відсутній в Т-

супресорах. Індукторний фактор адсорбується Т-супресорами та макрофагами надає антигензв'язуючі властивості неімунним клітинам. Отже, індукторному фактору, властиві характеристики фактора переносу [96]. Натомість супресорний фактор виявлений в Т-супресорах, відсутній в Т-хелперах зв'язується із специфічним антитілом [155].

Рівень трансфер-фактора достовірно впливає на фагоцитарну активність та фагоцитарний індекс лімфоцитів крові телят ( $F=3,5-5,1 > F_U=3,2$ ;  $p=0,05-0,01$ ). При чому, максимальну силу впливу трансфер-фактор чинить на 7 добу життя телят ( $\eta^2=0,33-0,54$ ;  $p<0,05-0,01$ ), яка до 14 доби життя дещо знижується. Отже, ФА та ФІ лімфоцитів крові 7-добових телят, яким вводили трансфер-фактор більша від показників тварин контрольної групи на 13–25 % ( $p<0,001$ ).

Отже, розроблена нами схема імунізації дозволила отримати активний трансфер-фактор, що володіє специфічними і неспецифічними імуномодельючими властивостями. За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу загального вмісту лімфоцитів, Т-лімфоцитів, Т-активних лімфоцитів та Т-хелперів у крові встановлено міжфакторну взаємодію між рівнем трансфер-фактора в організмі новонароджених телят із постнатальною адаптацією імунної системи тварин ( $F=3,76-4,80 > F_U=2,29-3,40$ ;  $p<0,05-0,01$ ). Очевидно, що така взаємодія носить однобічний характер, тобто ми можемо достовірно стверджувати, що застосування трансфер-фактора сприяє інтенсифікації постнатальній адаптації імунної системи телят.

Результати багаторічних досліджень свідчить про динамічність показників стану неспецифічної імунологічної реактивності організму сільськогосподарських тварин, що визначається як генетичними особливостями організму, так і впливом різних факторів довкілля [151, 196]. Після встановлення імуностимулюючого та імуномодулюючого ефектів введення трансфер-фактора нами проведено випробування його ефективності у виробничих умовах. Виробничу перевірку здійснювали в господарстві. Анамнез епізоотологічного дослідження вказує, що на хвороби травного тракту хворіє до 90 % новонароджених телят до двомісячного віку. Встановлено, що до 14 % всіх телят

хворіли на сальмонельоз, незважаючи на дворазову імунізацію тільних корів від сальмонельозу.

Боротьбу із хворобами травного каналу у господарстві проводили із використанням антидегідративних та антимікробних засобів. На ефективність цих засобів вказує зниження числа проявів захворювань травного каналу (до 54 %) та сальмонельозу у телят (до 8 %). Причому, у 65 % хворих телят контрольної групи перебіг хвороби був легкий, у 25 % – середній і лише у 10 % – тяжкий.

За даними I. Mikula та J. Pistl застосування трансфер-фактора для лікування сальмонельозу телят сприяє зростанню кількості циркулюючих Т-клітин, що виявлялось в реакціях розеткоутворення [82].

Застосування трансфер-фактора у комплексі з базовою схемою лікування сприяє істотному підвищенню резистентності телят, зокрема, частота клінічних проявів диспепсії знижувалась до 40 % та сальмонельозу телят – до 4 %. Тривалість та перебіг хвороб травного каналу в телят істотно змінювалась під час застосування трансфер-фактора. Зокрема, 80 % хворих телят перехворіли легкою формою шлунково-кишкових захворювань, 15 % – середньою і лише 5 % – тяжкою. Причому, вже на другу добу лікування видужувала половина хворих тварин, а ще 20 % – на третю добу лікування. Смертність телят дослідної груп становила лише 2 %, а індекс збереження сягав 98 %.

Отже, профілактичне застосування трансфер-фактора, отриманого із молозива сенсibiliзованих до збудника сальмонельозу корів сприяє підвищенню специфічної та неспецифічної резистентності телят, зниженню їх захворюваності хворобами травного каналу. Лікування хвороб травного каналу за допомогою застосування трансфер-фактора супроводжується легким перебігом та швидким видужанням тварин.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення й нове вирішення наукового завдання щодо удосконалення методики отримання трансфер-фактора з лімфоцитів молозива, обґрунтовано адаптогенну дію трансфер-фактора в організмі новонароджених телят раннього постнатального періоду, доведено ефективність його використання за шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят.

1. Розроблено методику сенсibilізації тільних корів-донорів трансфер-фактора, специфічного щодо *Salmonella enterica* serovar Dublin. Дворазове введення протисальмонельозної вакцини з інтервалом 10 діб за 1,5 місяці до отелення дає змогу отримати з лімфоцитів молозива ефективні зразки специфічного трансфер-фактора. У процесі сенсibilізації в крові тварин-донорів зростає кількість еритроцитів на 33,7 % ( $p < 0,01$ ), гемоглобіну – на 13 % ( $p < 0,05$ ), активність трансаміназ – на 39–46 % ( $p < 0,05$ – $0,01$ ) та зменшується вміст глюкози на 17 % ( $p < 0,01$ ) і креатиніну – на 19 % ( $p < 0,01$ ).

2. Удосконалено методику отримання трансфер-фактора з лімфоцитів молозива: оптимізовано елементи стабілізації вихідної сировини (молозива) та виділення й підрахунку лімфоцитів. Запропоновано стабілізуючий розчин для розведення відібраних зразків молозива, який ефективно впливає на збереження клітин. Розроблено методику визначення концентрації клітин і диференціації за використання полістиролових планшетів із лунками.

3. Отримані з лімфоцитів молозива зразки трансфер-фактора є специфічними щодо *Salmonella* Dublin, інгібують міграцію лейкоцитів у присутності специфічного антигену. За постановки реакції інгібіції міграції лейкоцитів індекс міграції за використання зразків у нативному вигляді становив  $44,56 \pm 4,27$  %, у процесі їхнього розведення 1:1, 1:2, 1:4 та 1:8 показник поступово зростав і становив відповідно  $50,56 \pm 6,54$  %,  $60,67 \pm 5,31$  %,  $66,89 \pm 7,32$  % та  $73,67 \pm 4,00$  % ( $p < 0,001$ ).



4. За використання отриманих зразків трансфер-фактора, специфічних щодо *Salmonella enterica* serovar Dublin, здійснено перенесення реакції гіперчутливості сповільненого типу ксеногенним тваринам – мишам лінії BALB/C. Товщина шкірної складки в місці інокуляції алергену в мишей, які отримали трансфер-фактор, збільшувалася у 1,64 рази ( $p < 0,001$ ).

5. У діалізному екстракті лейкоцитів, отриманих із клітин молозива сенсibilізованих тварин-донорів трансфер-фактора, виявлено 16 амінокислот, серед яких більше всього було глютамінової кислоти (13,2 %), лейцину (13,4 %) фенілаланіну (11,7 %); аланін, аргінін, аспарагінова кислота, лізин, треонін та валін складали від 5,6 до 8,3 %; гліцин, гістидин, ізолейцин, метіонін, пролін, серин та тирозин – 1,0–4,9 % від загального амінокислотного складу.

6. Встановлено адаптогенну дію трансфер-фактора, отриманого з лімфоцитів молозива корів-донорів, та обґрунтовано ефективність застосування його новонародженим телятам у період постнатальної адаптації. Трансфер-фактор сприяє зростанню кількості лейкоцитів у телят ( $p < 0,05$ – $0,001$ ), зокрема, Т-лімфоцитів – на 29,8 % ( $p < 0,001$ ) і В-лімфоцитів – на 26,9 % ( $p < 0,05$ ) та помітному зменшенню кількості 0-лімфоцитів (на 24,3 %;  $p < 0,05$ ), що призводить до зростання імунорегуляторного індексу крові на 20,1 % ( $p < 0,05$ ).

7. Застосування трансфер-фактора новонародженим телятам призводить до зсуву балансу між клітинною й гуморальною ланками імунного захисту в бік клітинної ланки, що виявляється, зокрема, у зростанні фагоцитарної активності нейтрофілів та показника фагоцитарного індексу нейтрофілів крові на 20,5–23,6 % ( $p < 0,001$ ).

8. Міжфакторна взаємодія власних компонентів контролю гомеостазу організму в новонароджених телят та введеного трансфер-фактору складає  $F=3,76$ – $4,80 > F_{U=2,29-3,40}$  ( $p < 0,05$ – $0,01$ ), що свідчить про адаптогенну дію трансфер-фактора за постнатальної адаптації новонароджених телят.

9. Доведено превентивну та протективну ефективність застосування отриманого з лімфоцитів молозива трансфер-фактора під час захворювань

травного каналу в новонароджених телят. Застосування трансфер-фактора з профілактичною метою сприяє зниженню захворюваності на 40 %, а з лікувальною метою в комплексі з антидегідратаційними та антимікробними засобами сприяє зростанню збереженості тварин (до 98 %).

## **ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

Трансфер-фактор отриманий з лімфоцитів молозива корів рекомендується використовувати з профілактичною метою, як засіб, що підвищує резистентність організму новонароджених тварин у період ранньої постнатальної адаптації, та за комплексної терапії хворих тварин.

Патент України на корисну модель 60203, А61К 35/74. Спосіб профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту у новонароджених телят № u201014664; заявлено 06.12.2010; опубліковано 10.06.2011; Бюл. № 11.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Akira S., Hirano T., Hago T., Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL6 and related molecules (IL and TNF)//FASEB J. 1990. Vol 4. P. 2860–2867.
2. Albelda S. M., Buck C. A. Integrins and other cell adhesion molecules. FASEB J 1990. Vol. 4. P. 2868–2880
3. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. Molecular Biology of the Cell. Garland Science. 2007. 155-7. 180-1. P. 478–480.
4. Alessandri A. L., Sousa L. P., Lucas C. D., Rossi A. G., Pinho V., Teixeira M. M. Resolution of inflammation: mechanisms and opportunity for drug development. Pharmacol Ther. 2013. 139(2). P. 189–212. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.04.006>.
5. Arala-Chaves M.P., Ramos M.T.F. In vitro assay of partially purified dialysable transfer factor fraction. Ricerca. 1976. № 6. P. 165 – 167.
6. Arala-Chaves M. P., Silva A., Fudenberg H. H. et al. In vitro and in vivo studies of the target cell for dialyzable leucocyte extracts. Evidence for recipient specificity. Clin. immunol. Immunopathol. 1987. № 8. P. 430.
7. Arala-Chaves M. P., Silva A., Porto M., Picoto A. In vitro and vivo studies of the target cell for dialyzable leukocyte extracts: Evidence for recipient specificity. Clin. Immunology and Immunopathology. 1977. № 8. P.430–447.
8. Arnaout M. A. Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11 CD18. Blood. 1990. Vol. 75. P. 1037–1050
9. Arnaudov, A., Tziporkov, N. Some properties and protective activity of specific DLE against Salmonella cholerae suis infection. Biotherapy. 1996. 9. P. 105–108 <https://doi.org/10.1007/BF02628666>
10. Ayad S., Boot-Hanford R. P., Humphries M. J., Kadler K. E., Shuttleworth C. A. The Extracellular Matrix (Facts Book). Academic Press (Harcourt Brace & Company, Publishers), Printed in Great Britain, S. 3 ff 1998. ISBN 0-12-068911-1.
11. Babu Nageswararao K., Lakshmi K., Ramakrshna R. Gestalt o f abzymes. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2011. № 4. P. 45–51.
12. Banchereau J., Pascual V., O'Garra A. From IL-2 to IL-37: the expanding spectrum of anti-inflammatory cytokines. Nat Immunol. 2012. 13(10) P. 925–931. doi: 10.1038/ni.2406.

13. Bazzoni G., Dejana E. Endothelial cell-to-cell junctions: molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol Rev.* 2004 Jul;84(3). P. 869–901.
14. Bennett R. M., Hefenelder S. H., Bakke A., et.al. The production and characterization of murine monoclonal antibodies to a DNA receptor on human leukocytes. *Immunology.* 1988. V. 140. P. 29–37.
15. Bennett R. M., Gabor G. T. Merritt DNA binding to human leukocytes: evidence for receptor-mediated association and degradation of DNA. *Clin Invest.* 1985. V. 76. P. 1.
16. Besser, T. E., Garmedia A. E., McGuire T. C. and Gay C. C. Effect of colostral immunoglobulin G1 and immunoglobulin M concentrations on immunoglobulin absorption in calves. *J. Dairy Sci.* 1985. 68. P. 2033–2037.
17. Beverley P. Immune Regulators in Transfer Factor. *British Journal of Cancer.* 1980. 41(1). 151.
18. Borvak J., Mayer V., Moravek L. Аминокислотный анализ отдельных пиков грубого и частичного очищенного ультрафильтратов лейкоцитов человека, полученных при использовании высокoeffективной жидкостной хроматографии на обращенной фазе. *Acta virol.* 1930. 34. № 1. P. 13–25.
19. Burger D. R., Klesius P. H., Vandenberg A. A., et al. Transfer of keyhole limpet hemocyanin dermal reactivity to man with bovine Transfer Factor. *Cell. Immunol.* 1979. V. 43. P. 192–196.
20. Butcher E. C. Cellular and molecular mechanisms that direct leucocyte traffic. *Amer. J. Path.* 1990. Vol. 136. P. 3–12.
21. Cabera-Quiroga R., Estroda - Parra S., Padiema-Olivos L. Effects of DLE in patients with herpes. *Research and Application of Transfer Factor and DLE / Huo Bao Lai, Wang Ru-Zhan, Zou Zhao Fen.-Beijing(China), Xucyuan. Press.* 1989. P. 292–305.
22. Cech T. The chemistry of cell splicing of RNA and RNA enzymes. *Science.* 1987. V. 235. P. 1531.
23. Chen P. W., Chen W. C., Mao F. C. Increase of lactoferrin concentration in mastitic goat milk. *J Vet Med Sci.* 2004. 66[4]. P. 345–350
24. Corbett R. B. Nutrition of the dairy calf part 1: colostrum. *Dairy World.* 1991. P. 4–7.
25. Cronstein B. N., Weissmann G. The adhesion molecules of inflammation. *1993.* 36(2). 147-157.

26. Dave A. I., Craig J. E., Sharma S. The status of intercellular junctions in established lens epithelial cell lines. *Mol Vis.* 2012. 18. P. 2937–46.
27. Davis C. L., Drackley J. K. The development, nutrition, and management of the young calf. Iowa State University Press. 1998. P.188–189.
28. De Witt B., Ramaekers J. What is Transfer Factor Plus? *Cell Immunol.* 1995. Vol. 164. № 2. P. 203–206.
29. Debruyne I. V. I., Cornu G., Heremans-Bracke T. Dialyzable leukocyte extracts in treatment of childhood leukemia. *Cabera-Quiroga* 1976. V. 44. № 2. P. 243–247.
30. Delgado R., Romano E., Beffort E. Dialyzable leukocyte extract therapy in immunodepressed patients with cutaneous leishmaniasis. *Clin. Immunol. and Immunopathol.* 1981. V. 19. P. 351.
31. Dinarello C. A. Inflammatory cytokines: interleukin-I and tumor necrosis factor as effector molecules in autoimmune diseases. *Curr. Opin. Immunol.* 1991 a.–vol. 3. P. 941–948.
32. Fazio M., Camevale-Schianca F., Sabidussi A. Serial in vitro transfer of hypersensitivity to cancer antigens by sensitised lymphocytes. *Panminerva med.* 1995. V. 37. P. 386–389.
33. Fazio M., Negri L., Mostromatteo V. Osteosarcoma-specific transfer factor: preliminary clinical results. *Exp. Pathol.* 1987. V. 3. № 4. P. 250–254.
34. Fleenor W. A., Stott G. H. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 1980. 63. P. 973–977.
35. Foley J. A., Otterby D. E. Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrum: A review. *J. Dairy Sci.*, 1978. 61. P. 1033–1060.
36. Fudenberg H. H., Pizza G. Transfer factor 1993: New frontiers. *Progress in Drug Research.* 1994. 42. P. 309–400.
37. Fudenberg H. Ophthalmologic herpes zoster: complete remission in six hours with dialyzable Transfer Factor. *Clin. Lab. Immunol.* 1985. V.18. P.49–51.
38. Fudenberg H., Wilson G., Coust I., et. al. Dialyzable leukocytes extract (T.F). A review of clinical results and immunological methods for donor selection, evaluation of activities and patient monitoring. *Thymus Thymic Hormones and T-lymphocytes: Proc. Sereno. Symp. Auiti F., Wigzell H. London.* 1980. V. 38. P. 391–421.

39. Fudenberg H., Spitler L., Levin A. Treatment of immune defiance. *Pathology*. 1972. V. 69. P. 529–536.
40. Gabibov A. Antibody catalysis. *Biochemistry, immunology, pathology. Autoimm. Rev.* 2006. V. 103. № 1. P. 1–7.
41. Galbraith G., Fudenberg H. Transfer Factor. *Dermatology, Immunology and Allergy*. 1985. V. 3. P. 889–898
42. Gay C. C., Besser T. E. Calves: Factors affecting colostral immunoglobulin absorption. *Animal Nutrition and Health*. 1985. 40(4). P. 29–32.
43. Godden, S. Colostrum management for dairy calves. *Vet. Clin. Food Anim.* 2008. 24. P. 19–39.
44. Goldenberg G. J., Brandes L. J, Lau W. H., et al. Cooperative trial of immunotherapy for nasopharyngeal carcinoma with transfer factor from donors with Epstein-Ban-virus antibody activity. *Cancer Treat. Rep.* 1985. V. 69. № 7-8. P. 761–767.
45. Goleva E. G., Lyubchenko T. A., Grodzinski D. M., Kholodna L. S. Transfer factor of cell-mediated immune response rehabilitation activities in irradiated mice. *XIth International Congress on Transfer factor. Monterrey. Mexico.* 1999 p.
46. Gumber S., Nusrat A., Villinger F. Immunohistological characterization of intercellular junction proteins in rhesus macaque intestine. *Exp Toxicol Pathol.* 2014. 66(9-10). P. 437–444. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2014.07.004>.
47. Hainaid I., Dormont D., Haguesuer G., et. al. Immunobiology of Transfer Factor. Eds. Kirkpatrick et.al. New-York, 1983. P. 273–277.
48. Harper W. J. Advances in chemistry o f milk. *J.Pairy Sci.* 2010. № 4. P. 713–722.
49. Hemler M. E. VLA proteins in the integrin family: structures, functions and their role on leukocytes. *Ann. Rev. Immunol.* 1990. Vol. 8. P. 365–400.
50. Hogg N., Bennett R., Cabanas C., Dransfield I. Leukocyte integrin activation. *Kidney Int.* 1992. Vol. 41. P. 613–616.
51. Hunt E. Critical colostrum. *Dairy Herd Workshop* 1990. 1(1). P. 16–20.
52. Hynes R. O. Integrins. *Cell.* 1987. vol. 48. P. 459–554.
53. Karhumaki E., Marnela K., Krohn K. Chromatographic and enzymatic effects on Transfer Factor - like activity from human leukocytes and porcine spleen dialyzate. *J. Biochem.* 1988. V. 20, № 10. P. 1067–1072.

54. Kirkpatrick C, Greenberg L. Treatment of chronic mucocutaneous candidiasis with Transfer Factor. Immune regulators and Transfer Factor / Khan A., Kirkpatrick C. Hill N. New-York. 1979. P. 97–105
55. Kirkpatrick C. H, Actives and characteristics of transfer factor. X-th Int. Symp. on Transfer factor. 22-24 June, 1995, Bologna, Italy. Abstract Book. Bologna, 1995. P.6
56. Kirkpatrick C. H. Structural nature and functions of transfer factors. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1993. 685. 362–368.
57. Kirkpatrick C. H. Transfer factors: identification of conserved sequences in transfer factor molecules. Molecular Med. 2000. 6. P. 332–337.
58. Kishimoto T. The biology on interleukin 6. Blood. 1989. Vol. 74. P. 1–10.
59. Kleiner G., Marcuzzi A., Zanin V., Monasta L., Zauli G. Cytokine levels in the serum of healthy subjects. Mediators Inflamm. 2013. 434010. <https://doi.org/10.1155/2013/434010>. Epub 2013 Mar 7.
60. Kleisus P., Kristenson F., Ernst I., Kramer T. Bovine transfer factor: Isolation and characteristics. Transfer Factor: Basic Properties and Applications. Eds. Ascher M., Gottlieb A., Kirkpatrick C. New-York, 1976. P. 311.
61. Klesius P.H., Qualls D.F. et al. Effect of bovine transfer factor (Tfd) in mouse Coccidiosis (*Eimeria ferrisi*). Clin. immunology 1978. 10. P. 214–221
62. Komatsu T. Effects of dialyzable leukocyte extracts (DLE) and inosine on stimulated lymphocytes. Bull. Tokyo Med. Dent. Univ. 1989. V.36. № 3. P. 35–40.
63. Larson B. L., Heary H. L., Jr., Devery J. E. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. J Dairy Sci. 1980. 63. P. 665–671.
64. Lauritsen, K. Tolboll; Hagedorn-Olsen, T.; Jungersen, G. et al. Transfer of maternal immunity to piglets is involved in early protection against *Mycoplasma hyosynoviae* infection. Veterinary Immunology And Immunopathology. 2017. 183. P. 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.12.002>
65. Lawrence H. S., Borkowsky W. A new basis for the immunoregulatory activities of transfer factor--an arcane dialect in the language of cells. Cellular Immunology. 1983. 82. P. 102–116.
66. Lawrence H. The cellular transfer of coetaneous hypersensitivity to tuberculin in man. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1949. V. 71. P. 516–522.
67. Lawrence H. The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leukocytes. Clin. Invest. 1955. V. 32. P. 219–230.



68. Lawrence H. Transfer Factor in cellular immunity. The Harvey Lectures Series 68. New-York. 1974. V. 126. P. 486–489.
69. Lawrence H. Transfer Factor. Adv. Immunol. Eds. Dixon F., Kunkel H. New York. Asad. Press. 1969. V. 11. P. 159–266.
70. Lee W., Holley H., Stewart I., Galbraith G. Refractory esophageal candidiasis associated with a plasma inhibitor T-lymphocytes function: Response to plasma exchange. Amer J. Med. Sci. 1986. V. 292. P. 47–54.
71. Levin A., Byers V. Osteogenic sarcoma immunologic parameters before and during immunotherapy with tumor specific transfer factor. Clin. Invest. 1975. V. 55. P. 487.
72. Li Z. Studies on porcine spleen cell dialysate: experimental application of Transfer Factor in veterinary and human medicine. Leukocyte Dialysates and Transfer Factor. Eds. Mayer V., Borvak J. Inst. Virol., Slovak. 1987. P. 478–490.
73. Lobb R. R. Integrin-immunoglobulin super-family interactions in endothelial-leukocyte adhesion. Adhesion: Its Role in Inflammatory Disease / Eds. J. M. Harlan, D. Y. Liu. W. H. Freeman. New York. 1992
74. Lokaj I. Dialysate of leukocyte homogenate in the treatment of sepsis. Bratisl. Lek. Listy. 1988 V.89. № 8. P.586–590.
75. Moreno-Indias I., Sánchez-Macías D., Castro N., Morales-de la Nuez A., Hernández-Castellano L.E., Capote J., Argüello A. Chemical composition and immune status of dairy goat colostrum fractions during the first 10h after partum. Small Ruminant Research. 2012. Vol. 103. Issues 2–3. Pages 220-224. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.015>.
76. Mechor G. D., Gröhn Y. T., Van Saun R. J. Effect of temperature on colostrometer readings for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. J. Dairy Sci. 1991. 74. P. 3940–3943.
77. Melnik B.C., John S. M., Schmitz G. Milk is not just food but most likely a genetic transfection system activating mTORC1 signaling for postnatal growth. Nutrition journal. 2013. 12. doi: 10.1186/1475-2891-12-103.
78. Mendes N. F., Saraiva P. J., Santos O. B. O. Restorative effect of normal human serum, transfer factor and thymosin on the ability of heated human lymphocytes to form rosettes with sheep erythrocytes. Cell. Immunol. 1975. № 17. P. 560
79. Metcalf I., John I., Wilson G. Mycobacterium fortuitum pulmonary infection associated with an antigen-selective defect in cellular immunity. Amer. J. Med. 1981. V. 71. P. 485.

80. Mikula I Dialyzable leukocyte extract used in the prevention of Salmonella infection in calves. *Vet. Immunol, and Immunopathol.* 1993. V. 32. № 1/2. P. 113–124.
81. Mikula I. Stabilization of Salmonella-specific dialyzable leukocyte extracts. *Vet. Immunol, and Immunopathol.* 1993. V.32, №1/2. P.103–112.
82. Mikula I., Pistl, J., Rosocha, J. Stabilization of Salmonella-specific dialyzable leukocyte extracts. *Veterinary immunology and immunopathology.* 1992. 32(1-2), P. 103–121. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(92\)90072-x](https://doi.org/10.1016/0165-2427(92)90072-x)
83. Muller L. D., Ellinger D. K. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 1981. 64. P. 1727–1730.
84. Neidhart J. A. a. o. Skin test conversion following transfer factor, *J. Allergy.* 1978. V. 61. P. 115.
85. Nickerson S. C.; Immunity and the bovine mammary gland. Pt 2. Specific defenses and cellular immune mechanisms. *Agri-Pract.* 1988. T. 9. № 6. P. 32–38
86. Norris V., Warrington S., Boyce M. Effect of Inhaled Interferon Beta-1a on Carbon Monoxide Transfer Factor in Healthy Volunteers. *Journal of Interferon & Cytokine Research.* 2016. Vol. 36 Issue 2. P. 113–119. <http://doi.org/10.1089/jir.2014.0231>
87. Osuka K., Watanabe Y., Usuda N., Aoyama M., Kawaguchi R., Takeuchi M., Takayasu M. Activation of Nuclear Factor-kappa B in Endothelial Cells of Chronic Subdural Hematoma Outer Membranes. *Neurosurgery.* 2017. 80(4). P. 571–578. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyw100>
88. Pekarek I., Cech K., Barnet K. The clinical use of specific transfer factor. Recent advances in Transfer Factor and dialyzable leukocyte extracts. Tokyo, 1992. P. 256–263.
89. Perepechkina N., Raikher L., Raikher I. Transfer of delayed type hypersensitivity to Staphylococcus protein A and antistaphylococcal resistance by means of leukocyte ultrafiltrates. Current researches In Transfer Factor. Eds. Zou Zhao Fen, Hou Bai Lai.-Beijing, Chine, 1993. P 120–148.
90. Pizza G., Viza D., Corrado F. Effects of in vitro produces transfer factor on the immune respons of cancer patients. *Eur. J. Cancer.* 1977. V. 13. P. 917–923
91. Pritchett L. C., Gay C. C., Besser T. E. and Hancock D. D. Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 1991. 74. P. 2336–2341.

92. Raynal-Ljutovac K., Gaborit P., Lauret A. Lactoferrin concentrations in goat milk throughout lactation. *Small Ruminant Research*. 2008. V. 80. Issue 1. P. 87–90.
93. Roy J. H. B. *The calf*. Fourth ed. Butterworths. 1980. P. 57–60.
94. Rozzo S., Boymel I., Kirkpatrick O. Composition and purification of transfer factor. *Recent advances of Transfer Factor and dialysable leukocyte extracts.* / Eds. Fujisawa T. Tokyo. 1992. P. 11–22.
95. Sakurai K., Matsuoka T., Suzuki C., Kinoshita J., Takayama G., Shimomura K. Investigation of the teratogenic potential of VLA-4 antagonist derivatives in rats. *Reprod Toxicol*. 2014. 49. P. 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.08.003>.
96. Salaman M. The state of Transfer Factor. *Immunology today*. 1982. P. 3–4.
97. Sargent I. L., Myer R. S., Valdimarsson H. Effects of transfer factor (TF) and thymosin on the recovery of E-rosetting capacity in trypsinised lymphocytes. *Immune regulators in Transfer Factor* / Eds A. Khan, C. H. Kirkpatrick, N. O. Hill. New York: Acad. Press. 1979. P. 172.
98. Schu Z., Sicai S. Survey on the specific immune activity of oral antihepatic B placenta transfer factor. *X Int. Symp. on Transfer Factor: Abstr. Book*. Bologna, 1995. P. 26.
99. Sedlak C., Patzl M., Saalmüller A., Gerner W. CD2 and CD8 $\alpha$  define porcine  $\gamma\delta$  T cells with distinct cytokine production profiles. *Dev Comp Immunol*. 2014. 45(1). P. 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.02.008>.
100. Sell S. *Immunology, Immunopathology and Immunity*. Stamford, CT: Appleton & Lange 1975 1996. 384.
101. Shamna M., Firouz R., Ala F. Transfer factor therapy in human cutaneous leishmania (CLI): A double-blind clinical trial. *Immune Regulators and Transfer Factor*. Eds. Khan A., Kirkpatrick C, Hill N. New-York. 1979. P. 563–570.
102. Sharma M., Aharaki F., Ala F. Preliminary results of transfer factor therapy of persistent coetaneous leishmania infection. *Clin. Immunol, and Immunophatol*. 1979. V.12. P.183–187.
103. Shimizu Y., Newman W., Tanaka Y, Shaw S. Lymphocyte interaction with endothelial cells. *Immunol. Today*. 1992. vol. 13. P. 106–112.
104. Shimizu Y., Shaw S. Lymphocyte interactions with extracellular matrix. *FASEB J*. 1991. Vol. 5. P. 2292–2299.
105. Skybitskyi V. G., Postoi V. V., Kozlovska H. V., Ibatullina F. Zh., Postoi R. V. Blood biochemical parameters in transfer factor donor cows depending on

sensitization scheme. Ukrainian journal of veterinary sciences. 2020. Vol. 11. Issue 4. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Veterenarna/article/view/14720>

106. Springer T. A., Dustin M. L., Kishimoto T. K., Marlin S. The lymphocyte function-associated LFA-1, CD2, and LFA-3 molecules: cell adhesion receptors of the immune system. *Ann. Rev. Immunol.* 1987. vol. 5. P. 223–252.

107. Stephen D. Sugarman. Cases in Vaccine Court — Legal Battles over Vaccines and Autism. *N Engl J Med.* 2007. 357. P. 1275–1277

108. Stott G. H., Marx D. B., Menefee B. E., Nightengale G. T. Colostral immunoglobulin transfer in calves I. Period of absorption. *J. Dairy Sci.*, 1979a. 62. P. 1632–1638.

109. Tambe D. T., Hardin C. C., Angelini T. E., Rajendran K., Park C. Y., Serra-Picamal X., Zhou E. H., Zaman M. H., Butler J. P., Weitz D. A., Fredberg J. J., Treppe X. Collective cell guidance by cooperative intercellular forces. *Nat Mater.* 2011. 10(6). P. 469–475. <https://doi.org/10.1038/nmat3025>.

110. Tseng Q., Duchemin-Pelletier E., Deshiere A., Balland M., Guillou H., Filhol O., Théry M.. Spatial organization of the extracellular matrix regulates cell-cell junction positioning. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012. 109(5). P. 1506–1511. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106377109>.

111. Uruakpa F., Ismond M., Akobundu E. Colostrum and its benefits: a review. *Nutr. Res.* 2002. 22. P. 755–767. doi: 10.1016/S0271-5317(02)00373-1.

112. Ushiyama A., Ono M., Kataoka-Hamai C., Taguchi T., Kaizuka Y. Induction of intermembrane adhesion by incorporation of synthetic adhesive molecules into cell membranes. *Langmuir.* 2015. 31(6). P. 1988–1998. <https://doi.org/10.1021/la504523c>.

113. Vandenbark A. A., Burger D. R. et al. Human transfer factor: Fractionation by electrofocusing and high pressure, reverse phase chromatography. *J. of immunology.* 1977. vol. 118. N. 2

114. Viza D., Fudenberg H. H., Palareti A., Ablashi D., De Vinci C., Pizza, G. Transfer Factor: an Overlooked Potential for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases. *FOLIA BIOLOGICA.* 2013. Vol. 59. Issue 2. P. 53–67

115. Viza D., Vich I., Philips I. Use specific transfer factor for the prevention or the treatment of herpes infection in mice and man. *Exp. Pathol.* 1987. V. 3. P. 407–420.

116. Wang J. F., Rendini T., Levis W.R. Letter to the Editor: CD8+ T cells as a source for transfer factor in understanding the immunology of leprosy and HIV. *J Leuk Biol.* 2017. 102. P. 565–566. <https://doi.org/10.1189/jlb.5LT0417-154R>

117. Wang Rui-ning, Wang Ya-bin, Geng Jing-wei, Guo Dong-hui, Liu Fang, Chen Hong-ying, Zhang Hong-ying, Cui Bao-an, Wei Zhan-yong. Enhancing immune responses to inactivated porcine parvovirus oil emulsion vaccine by co-inoculating porcine transfer factor in mice. *Vaccine*. 2012. Vol. 30. Issue 35. P. 5246–5252. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.077>

118. Welch T., Triglia R., Spetler L, Fudenberg H. Preliminary studies on human transfer factor activity in guinea pigs: systemic transfer of coetaneous delayed-type hypersensitivity to PPD and SKSD. *Clin. Immunol. and Immunopathol.* 1976. V. 5. P. 407–415

119. Wesley A., Dunnick I., Fritz H. Specifity and structural analysis of a guinea pig Transfer Factor-like activity. *Immunology*. 1976. V. 18. P. 1944–1950

120. William J. H. The Super Supplement Combination for Optimal Immune Function: Enhanced Transfer Factor. Woodland Publishing. 2000.

121. Wilson G., Fudenberg H. Leukocyte migration inhibition as a method of assaying of transfer activities. *Lymphokines / Eds. Pick E., Landy M.* 1981. V. 4. P. 107.

122. Wong M. What has happened in the last 50 years in immunology. *J Paediatr Child Health*. 2015. 51(2). P. 135-139. <https://doi.org/10.1111/jpc.12834>

123. Xu R. J. Development o the newborn GI tract and its relation to colostrum/milk intake: a review. *Reprod. Fertil. Dev.* 1996. 8. P. 35–48.

124. Zajicova A., Javorkova E., Trosan P., Chudickova M., Krulova M., Holan V. A Low-Molecular-Weight Dialysable Leukocyte Extract Selectively Enhances Development of CD4(+)ROR gamma t(+) T Cells and IL-17 Production. *FOLIA BIOLOGICA*. 2014. Vol. 60. Issue 6. P. 253–260

125. Zanin-Zhorov A, Waksal SD. ROCKing cytokine secretion balance in human T cells. *Cytokine*. 2015. 72(2). P. 224–235. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.12.025>.

126. Аленичкина Г. Е., Севастьянова В. М. Белки, клетки крови и молока коров в разные периоды функционального состояния и при скрытых маститах. *Вопр. физ. хим. биологии в ветеринарии*. М. 1997. С. 23–25.

127. Аністратенко В. О., Федоров В. Г. Математичне планування експериментів в АПК: Навч. Посібник. К.: Вища шк., 1993. 375 с. іл..

128. Арала-Чейвз М. П и др. Биологические и клинические аспекты фактора переноса, в кн.: Имму-нол. инженерия, под ред. Д. У. Джирша, пер. с англ. М. 1982. С. 53.

129. Афанасьев М. П., Ардатовская И. П. Химический состав и технологические свойства молока коров различных пород. Тезисы докл. Респ. научн. производ, конф. Казань. 1996. С. 202.

130. Бастен А., Крофт С. Фактор переноса: клиническое использование и экспериментальные данные. Иммунологическая инженерия / Под ред. Д. Джирша. М. Медицина. 1982. С. 105–148

131. Близнюк А. Д. Дослідження імунобіологічної ролі коров'ячого молока. Здоров'я. 2008. № 8. С. 5–17.

132. Блинов Л. Н., Перфилова И. Л. и др. Микробиология и иммунология: Учебное пособие. СПб.: Лань. 2013. 240 с

133. Вершигора А. Е. Общая иммунология. Киев: Вища школа, 1990. 736 с.

134. Голева О. Г., Пастер І. П., Любченко Т. А., Холодна Л. С., Пастер Є. У., Доніч С. Ф., Гродзінський Д. М. Модифікація активності лімфоцитів ксенотрансплантацією тканини щитовидної залози та фактором переносу імунної реактивності за умов радіаційно індукованого гіпотиреозу. Доповіді НАН України. 1999. № 10. С. 156–160.

135. Горбатова К. К. Биохимия молока и молочных продуктов. Санкт-Петербург. ГИОРД. 2004. 312 с.

136. Горбатова К. К. Химия и физика молока. Санкт-Петербург. ГИОРД. 2004. 280 с.

137. Дацьків О.М. Імунний статус плодів і телят з різним антенатальним розвитком. автореф. дис. на здобуття наук. ступеня. канд. с.-г. наук. Львів 1999. 19 с.

138. Дмитриева М. Е. Способ профилактики вирусных болезней птиц Патент на изобретение RU2624503 Дата подачи заявки: 30.12.2015 Опубликовано: 04.07.2017 Бюл. № 19

139. Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии. М.: Медицина. 1996. С. 238.

140. Житихина Ю. В. Влияние колострального молока на содержание Т- и В-лимфоцитов в крови телят раннего периода развития. Тр.Бурят.гос.с.-х.акад. 1999. Вып. 39. ч. 1. С. 48–49

141. Жосан М. С. Стан природної резистентності та імунологічної реактивності у новонароджених телят при колібактеріозі: автореф. дис... д-ра вет. наук: 16.00.03 / Жосан Микола Степанович ; Національний аграрний ун-т. К., 1998. 34 с.

142. Зобкова З. С., Мишина А. В., Бегунова А. В. О бифидогенных свойствах лактоферрина. Молочная промышленность. 2008. 143 № 7 С. 14–18.

143. Икряшшков Н. А. Состав и свойства молозива и молока коров айрширской и черно пестрой пород. Автореф. дисс. канд. с.-х. наук. М. 1971. С. 6–8.

144. Иолчиев Б. С., Кондрахин М. М., Левина Т. Н., Никольская Л. А. Молозиво высокопродуктивных коров и резистентность их приплода. Зоотехния. 2005. № 2. С. 16–17.

145. Кальф-Каліф Я.Я. Про ЛІІ та його практичне значення. Лікарська справа. 1941 1 С. 31-33

146. Карпуть И. М. Качество молозива и иммунный статус молодняка. Изв Акад.аграр.наук Беларуси, 1995; N 1, С. 78–83

147. Карпуть И. М.; Пивовар Л. М. Профилактика аутоиммунной патологии органов пищеварения у животных. Тезисы докладов межреспубликанской конференции. 1988. С. 48–50

148. Кашкин Н. П., Кубась В. П., Лихолетов С. М. Фактор переноса гиперчувствительности замедленного типа (трансфер-фактор) и его клиническое применение. М.: Мир. 1977. 15 с.

149. Квижинадзе Л. Р., Сеуенов В. Ф., Чредеев А. Н. и др. Влияние низкомолекулярного лейкоцитарного диализата на эндогенное колониеобразование у мышей. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1982. № 11. С. 63–65

150. Корчубекова Т. А. Лактоферрин молочного секрета и сыворотки крови овец при становлении лактации. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 14.00.17. Кыргызская государственная медицинская академия. Бишкек. 2000

151. Коршунова Л. М., Сікачина С. Ф., Сентюрін В. В. Морфологія та функції системи імунітету сільськогосподарських тварин. Д. ДДАУ. 2003. 65 с.

152. Кухаркина О. В., Невинская О. В., Никешина Т. Б., Жбанова Т. В. Получение и тестирование диализата экстракта лейкоцитов, содержащего фактор переноса против ротавирусной инфекции КРС II Мониторинг, распространение и предотвращение особо опасных болезней животных: Матер, докл. науч. конф. Самарканд. 2001. С. 88–89.

153. Кухаркина О. В. Нетрадиционные способы иммунизации животных (Обзор). Достижения молодых ученых – в ветеринарную практику. Матер, конф. Владимир, 2000. С. 60–63.

154. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / За ред. В. В. Влізла. Львів. 2012. 759 с.

155. Любченко Т. А., Голева О. Г., Холодна Л. С., Степанчук В. А., Вершигора А. Ю. Людський специфічний Фактор переноса до антигенів *Staphylococcus aureus*. Фізіол. журн. 1997. Т. 43. № 3-4. С. 25–32.

156. Медуницын Н. В., Литвинов В. И., Мороз А. М. Медиаторы клеточного иммунитета и межклеточного взаимодействия. М. Медицина. 1980. 430 с.

157. Мельничук Д. О., Любецька Т. В., Цвіліховський М. І., Грищенко В. А., Якимчук О. М. Постнатальні біохімічні процеси в організмі новонароджених телят. Укр. біохім. журн. 2002. 74, № 4Б (Дод. 2). С. 98.

158. Онуфрієв В. П., Скибіцький В. Г., Міськевич С. В., Шивінда А. Е., Степанюк О. В., Козловська Г. В., Постой В. П., Терес А. С., Іванченко Г. А. Вивчення діалізованих екстрактів лейкоцитів. Тваринництво України. 1998. С. 16–17

159. Павлова Ж., Галун Л. Белковый состав коровьего молока. Пищевая технология. 2007. №3. С. 42–44.

160. Пальцев М. А., Иванов А. А. Межклеточные взаимодействия. Медицина. 1995.

161. Пацеля О. А. Етологічні дослідження і якісні показники молока корів яких утримували на прив'язі в приміщенні та на вигульно-кормовому майданчику в сухостійний період. Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. Біла Церква. 1998. Вип. 3. Ч. 1. С. 162–164.

162. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. и др. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях, методические рекомендации для научных работников и врачей практического здравоохранения. Иммунология. 1992. №6. С. 51–62.

163. Пивовар Л. М. Клеточные компоненты колоострума свиноматок. Современные пробл. иммунологии, ветеринарии и животноводства. 1987. С. 55–56

164. Пивовар Л. М. Профилактика иммунного дефицита новорожденности у поросят-сосунов. Вопр. групповой профилактики заболеваний животных и птиц. 1987. С. 68–70

165. Полетаев П. В. Физиология и биохимия жирномолочности коров. М. "Колос". 1972. С. 12.



166. Постой В. В. Неспецифічні та антигенспецифічні властивості трансфер-фактора, отриманого з молозива сенсibilізованих до збудника сальмонельозу корів Наукові горизонти, 2019, № 8(81) С. 53–58.

167. Постой В. В., Козловська Г. В. Деякі показники фізико-хімічного і клітинного складу молока і молозива корів. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, 2009 Том 11, № 2-4 (41) С. 65–71.

168. Постой В. В. Дослідження клітин у молозиві та молоці корів. Конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва 11-12 березня 2008 р. тези доповідей. Національний аграрний університет. К. 2008. С 108.

169. Постой В. В. Отримання зразків трансфер фактору, специфічного щодо збудника сальмонельозу, з клітин молозива корів. Конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва 12-13 березня 2009 р. тези доповідей. К. 2009. С. 144–145.

170. Постой В. В., Козловська Г. В. Ефективність комплексу пробіотика з трансфер-фактором при шлунково-кишкових захворюваннях у телят. Наукові здобутки молоді у вирішенні актуальних проблем виробництва та переробки сировини, стандартизації і безпеки життя та продовольства: II Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 28 травня 2012 року. тези доповіді. К., 2012. С. 494–495.

171. Постой В. В., Скибіцький В. Г. Вплив молозивного трансфер-фактора на вміст лейкоцитів та лейкограму крові телят. Наукові доповіді НУБіП України, 2017. 2 (66). URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/viewFile/8489/7939>

172. Постой В. В., Скибіцький В. Г. Вплив рівня сенсibilізації організму корів вакциною проти сальмонельозу телят на морфологічні показники крові. XVI Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів «Актуальні проблеми ветеринарної медицини» м. Київ 19-20 квітня 2017: тези доповіді. К., 2017. С. 106.

173. Рапа О. І. Показники імунітету телят, народжених від корів з дефіцитом заліза в раціонах. Науковий вісник Львівського національного університету

ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. 2011. Т. 13. № 2(1). С. 235-240.

174. Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Риженко В. В., Андріяшук В. О. та ін. Теоретичне та експериментальне обґрунтування розробки нових вакцин. Ветеринарна біотехнологія. № 13 (1). 2008. С. 51–62.

175. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань. М.: Медицина. 1981.

176. Сипливый В. А., Конь Е. В., Евтушенко Д. В. Использование лейкоцитарных индексов для прогнозирования исхода перитонита. Клінічна хірургія. 2009. № 9. С. 21–26.

177. Скибіцький В. Г., Постой В. В., Козловська Г. В., Ібатулліна Ф. Ж., Даниленко С. Г. Молозивний трансфер-фактор в комплексній терапії за шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят. Науковий вісник НУБіП України Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва», 2018. 293 С. 145–151.

178. Скибіцький В. Г., Столюк В. В., Ібатулліна Ф. Ж., Козловська Г. В., Постой В. В. Спосіб профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту у новонароджених телят: патент на корисну модель № 60203 Україна. А61К 35/74. Заявник і патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України. № u 2010 14664; заявлено 06.12.2010. опубліковано 10.06.2011. Бюл. № 11.

179. Слуквін І. І., Пилипенко В. В., Фільченков А. А., Чернишов В. П. Вплив жіночого молозива та його фракцій на функціональну активність В-лімфоцитів. Физиол. журн. 1993. Т. 39, № 4. С. 57–62.

180. Стапай П. В. Особливості хімічного складу і біологічної цінності молока корів Біологія тварин. 2010. Т. 12, № 1. С. 18–27.

181. Степанюк О. В. Вивчення властивостей фактора перенесення, який міститься в діалізному екстракті лейкоцитів великої рогатої худоби, сенсibilізованої антигеном хвороби Ауескі. Науковий вісник НАУ. 1998. № 10. С. 27–33.

182. Степанюк О. В. Властивості фактора перенесення активного імунітету до збудника Ауески. Ветеринарна медицина України. 1999. № 9. С. 20–22.

183. Столюк В. В. Вивчення ад'ювантних властивостей трансфер-фактору, специфічного щодо збудника сказу. Тези доповідей 1 Конф. професорсько-викладацького складу і аспірантів ННІ ВМЯБП АПК. К. НАУ. 2002. С. 93–94.

184. Столюк В. В. Отримання трансфер-фактору антирабічного та його імунобіологічні властивості: автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.03. Нац. аграр. ун-т. К., 2003. 21 с.

185. Столюк В. В. Скибіцький В. Г., Березанська А. В. Вивчення впливу трансфер-фактору, специфічного щодо збудника сказу, на фагоцитарну активність нейтрофілів морських свинки. Ветеринарна медицина України. 2003. № 6. С. 34–35.

186. Сухорукова Т. Ф., Уракунова К., Мурсакулова С. Стимуляция образования иммунологических факторов молозива овец методом вакцинации вымени. Тезисы докладов. Ч. 2. 1988. С. 78–79

187. Ташута О. С. Імуномодуюча активність трансфер-фактора проти вірусу чуми м'ясоїдних: автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.03. Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. К., 2009. 24 с.

188. Ташута О. С., Скибіцький В. Г., Ташута С. Г. Вплив трансфер-фактора, специфічного щодо вірусу чуми м'ясоїдних на показники периферичної крові собак. Аграрна наука і освіта. 2008. Т. 9. № 3-4. С. 87–93.

189. Ташута О. С. Раціональний метод визначення протективних властивостей фактора перенесення активного імунітету, специфічного щодо вірусу чуми м'ясоїдних. Науковий вісник Національного аграрного університету. 2008. Вип.118. С. 151–157.

190. Ташута О. С., Ташута С. Г. Ефективність клінічного застосування експериментальних зразків трансфер-фактора для лікування хворих собак. Тези доповідей конференції проф.викл. складу, наук. співробітників і аспірантів ННІ ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва. Київ, 11–12 березня 2008 р. Київ, НАУ, 2008. С. 133–134.

191. Ушкалов В. О., Коваленко Н. М., Кисляк О. П., Романько М. Є. Стан показників природної резистентності та оксиданто-антиоксидантної системи крові великої рогатої худоби за умов застосування вакцини «Некросан». Ветеринарна біотехнологія. № 13 (2). 2008. С. 278–283.

192. Холодна Л. С., Позур В. К., Любченко Т. А., Гриценко Л. М., Голева О. Г., Кучеренко М. Є. Синтез ДНК в лімфоцитах опромінених тварин під впливом мітогенів та антигенів стафілококу. Укр. біохім. журн. 1998. Т. 70. № 1. С. 58–62.

193. Хрусталева Г. И. Соматические клетки в секрете молочной железы коров. Бюл. ВНИИ физиологии, биохимии и питания с.-х. животных. 1983. Т. 4. С. 52–55

194. Чернишов П. В. Специфічні імуноглобуліни до коров'ячого молока в лікування дітей. Дерматологія. 2008. № 1. С. 33–36.
195. Чернишова Л. І. Волоха А. П. Дитяча імунологія К.: ВСВ «Медицина», 2013. 720 с.
196. Чумаченко В.Ю., Чумаченко В.В., Павленко О. Дослідження імунної системи. Фактори, що впливають на резистентність тварин. Ветеринарна медицина України. 2004. № 5. С. 33–36.
197. Шивинда А. Э. Получение антигенспецифического ДЭЛ против ротавирусного и эшерихийного антигенов. Животноводство Украины. 1998. № 2. С. 16
198. Юшкова Т. А., Юшков В. В. Иммуномодулирующая активность трансфер-факторного препарата трансфлавина, специфичного вирусу клещевого энцефалита. Журн. микробиол. 1998. № 2. С. 83–86

## ДОДАТКИ

Додаток А

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

## Статті у наукових фахових виданнях України

1. Постой В. В. Трансфер фактор: структура та використання (огляд). Науковий вісник НУБіП України Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва». 2010. 151. Ч. 2. С. 153-158.

2. **Постой В. В.**, Козловська Г. В. Деякі показники фізико-хімічного і клітинного складу молока і молозива корів. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. 2009. Том 11, № 2-4 (41). С. 65-71. *(Здобувач виконала експериментальні дослідження, статистичну обробку даних та формулювання висновків).*

3. Постой В. В. Неспецифічні та антигенспецифічні властивості трансфер-фактора, отриманого з молозива сенсibiliзованих до збудника сальмонельозу корів. Наукові горизонти. 2019. № 8 (81). С. 53-58.

## Статті у наукових фахових виданнях України,

## включених до міжнародних наукометричних баз даних

4. **Постой В. В.**, Скибіцький В. Г. Вплив молозивного трансфер-фактора на вміст лейкоцитів та лейкограму крові телят. Наукові доповіді НУБіП України. 2017. 2 (66). URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/viewFile/8489/7939> *(Здобувач провела експериментальні дослідження, підготувала матеріали для публікації).*

5. Скибіцький В. Г., Ташута О. С., Козловська Г. В., **Постой В. В.**, Ібатулліна Ф. Ж. Перспективний засіб коригування імунітету у тварин. Науковий вісник НУБіП України. Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва». 2017. Вип. 265. С. 189-195. *(Здобувач провела аналіз наукових джерел з проблеми досліджень).*

6. Скибіцький В. Г., **Постой В. В.**, Козловська Г. В., Ібатулліна Ф. Ж., Даниленко С. Г. Молозивний трансфер-фактор в комплексній терапії за шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят. Науковий вісник НУБіП України Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва». 2018. Вип. 293. С. 145-151 (*Здобувач провела експериментальні дослідження, підготовлено матеріали для публікації*).

7. Skybitskyi V. G., **Postoi V. V.**, Kozlovska H. V., Ibatullina F. Zh., Postoi R. V. Blood biochemical parameters in transfer factor donor cows depending on sensitization scheme. Ukrainian journal of veterinary sciences. 2020. Vol. 11. Issue 4. P. 71-78. URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Veterenarna/article/view/14720>. (*Здобувач провела експериментальні дослідження, підготувала матеріали для публікації*).

#### **Патент України на корисну модель**

8. Скибіцький В. Г., Столюк В. В., Ібатулліна Ф. Ж., Козловська Г. В., **Постой В. В.** Спосіб профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту у новонароджених телят: патент на корисну модель 60203 Україна, № u201014664; заявлено 06.12.2010; опубліковано 10.06.2011; Бюл. № 11. (*Здобувач взяла участь у дослідженнях, розробленні принципу корисної моделі і підготовці матеріалів до патентування*).

#### **Тези наукових доповідей**

9. Постой В. В. Дослідження клітин у молозиві та молоці корів. Конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 10–12 березня 2008 року: тези доповідей. К., 2008. С. 128.

10. Постой В. В. Отримання зразків трансфер фактору, специфічного щодо збудника сальмонельозу, з клітин молозива корів. Конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції

тваринництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 12–13 березня 2009 року: тези доповідей. К., 2009. С. 135.

11. **Постой В. В.**, Козловська Г. В. Ефективність комплексу пробіотика з трансфер-фактором при шлунково-кишкових захворюваннях у телят. XI Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників, і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 14–15 березня 2012 року: тези доповіді. К., 2012. С. 39-40. *(Здобувач провела дослідження, підготувала матеріали для публікації).*

12. **Постой В. В.**, Скибіцький В. Г. Вплив рівня сенсibilізації організму корів вакциною проти сальмонельозу телят на морфологічні показники крові. XVI Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів «Актуальні проблеми ветеринарної медицини», м. Київ, 19–20 квітня 2017 року: тези доповіді. К., 2017. С. 106. *(Здобувач провела дослідження, підготувала матеріали для публікації).*



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60203 (13) U  
(51) МПК  
A61K 35/74 (2006.01)  
A61K 38/19 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ПРОФІЛАКТИКИ ЗАХВОРЮВАНЬ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ТІЛІТ

1

2

(21) u201014664

(22) 08.12.2010

(24) 10.06.2011

(46) 10.06.2011, Бюл. № 11, 2011 р.

(72) СКОБИЦЬКИЙ ВОЛОДИМИР ГУРІЙОВИЧ,  
СТОЛІК ВАЛЕРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ, ІБАТУЛЛІНА  
ФІЛЬРА ЖАФЕРІВНА, КОЗЛОВСЬКА ГАННА ВО-  
ЛОДИМИРІВНА, ПОСТОЙ ВІКТОРІЯ ВІКТОРІВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

(57) Спосіб профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту у новонароджених телят, що включає застосування цитодина, лакто- і біфідобактерій, який відрізняється тим, що одночасно застосовують ефективні комплекси ідентифікованої мікрофлори та трансфер-фактор активного імунітету.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини, зокрема: мікробіології, вірусології та муніології, а саме способу профілактики захворювань, що супроводжуються ураженням шлунково-кишкового тракту новонароджених телят.

Нерідко етіологічними факторами шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят є ротавіруси, коронавіруси, патогенні та умовно-патогенні бактерії та їх асоціації. Віруси репродукуються переважно у високо диференційованих епітеліальних клітинах тонкої кишки, руйнують їх, що порушує абсорбцію імуноглобулінів материнського молока, призводить до глибоких патологічних змін. Ситуацію погіршують порушення режиму годівлі і утримання тварин, нехтування правилами санітарії. У таких умовах не формується належний шлунково-кишковий мікробіоценоз, що суттєво знижує резистентність організму до різноманітних факторів навколишнього середовища.

Згадані захворювання завдають значних збитків галузі, спричиняючи відхід молодят, уповільнюючи ріст і розвиток телят, наносять невідворотні втрати майбутній продуктивності тварин. Незважаючи на введення профілактики, захворюваність і смертність досі залишаються високими.

Визначено аргументи необхідності розробки нових ефективних засобів і методів профілактики та терапії згаданих захворювань, здатних забезпечити екстрений захист щодо циркулюючих в господарстві патогенів. А створення належного шлунково-кишкового мікробіоценозу - компоненту імунної системи - забезпечує гомеостаз тваринно-

го організму. Такий підхід може бути успішно реалізований шляхом вжиття новонародженим телятам пробіотику на основі лакто- і біфідобактерій у комбінації з імуномодулятором - діалізованим екстрактом лімфоцитів молока, що містить трансфер-фактор, специфічний щодо збудників шлунково-кишкових хвороб телят. Спосіб дозволить підвищити ефективність заходів щодо профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту новонароджених телят.

На сьогодні для профілактики запропоновані схеми, що включають пробіотикотерапію. Найближчим аналогом є препарат «Бактонорм» (Патент № 48187, опубл. 15. 05. 2002р., Бюл. №5. Препарат «Бактонорм» для профілактики дисбактеріозу та шлунково-кишкових хвороб у новонароджених телят і спосіб його одержання).

Надодковим аналогом є відсутність компонентів адресного захисту.

Поставлене завдання вирішується тим, що у запропонованому способі профілактики шлунково-кишкових хвороб телят застосування пробіотику поєднують з введенням факторів адресного екстреного захисту - діалізованого екстракту лімфоцитів молока (ДЕЛ), що містить трансфер-фактор.

Завдання корисної моделі є підвищення ефективності профілактичних заходів при шлунково-кишкових хворобах телят. Запропонована схема забезпечує створення екстреного специфічного захисту організму новонароджених телят проти вірусних і бактеріальних патогенів за рахунок введення ДЕЛ (трансфер-факторів), що доповнюється створенням нормального кишкового мікробіоцено-

UA (19) 60203 (11) U



**Погоджено**  
**Проректор з навчальної і виховної роботи**

доктор економічних наук, професор,  
 академік НААН, заслужений діяч  
 науки і техніки України

Кваша С. М.

(підпис)

(Прізвище,  
 ініціали)

«    »

р.

**Затверджую**

**Перший проректор**

доктор сільськогосподарських  
 наук, професор, академік НААН,  
 заслужений діяч науки і техніки  
 України

Ібатуллін І. І.

(Прізвище,  
 ініціали)

р.

**АКТ**

**про впровадження/використання результатів  
 кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес**

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему:  
«Отримання трансфер-фактору на основі клітин молозива корів та  
імунобіологічні його властивості»

(назва теми)

що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук зі  
 спеціальності 16.00.03. – ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні  
 хвороби та імунологія, виконаної Постой Вікторією Вікторівною

(ПІБ здобувача)

впроваджено у навчальну програму при викладанні дисциплін(и):  
ветеринарна вірусологія, епізоотологія та інфекційні хвороби

(назва дисципліни)

розділ «Імунітет» доповнений новими науковими даними щодо особливостей  
участі трансфер-фактора в імунному захисті тварин

(необхідно конкретизувати, які результати дисертаційної роботи і яким чином (способом) використані при викладанні дисциплін(и))  
 на кафедрі епізоотології, мікробіології і вірусології

(назва кафедри)

у підготовці фахівців ОС «Бакалавр» та ОС «Магістр» за напрямом ветеринарна  
 медицина із спеціальності ветеринарна медицина

(назва спеціальності)

у Національному університеті біоресурсів і природокористування України

(назва ВНЗ)

Декан факультету

д-р біол. наук, академік НААН України

Цвіліховський М. І.

Завідувач кафедри

к. вет. наук, доцент

Мельник В. В.

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Проректор з наукової роботи та  
міжнародних зв'язків ОДАУ,  
доктор ветеринарних наук,  
професор



О. В. Данчук

2020 р.

**КАРТКА ЗВОРотноГО зв'язку**

1. Викладені в інформаційному листі дані дисертаційної роботи на тему: «Отримання трансфер-фактору на основі клітин молозива корів та імунобіологічні його властивості», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія», виконаної Постой Вікторією Вікторівною використовуються у навчальну процесі при викладанні дисципліни «Ветеринарна імунологія» у підготовці фахівців ОР «Бакалавр» зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина».
2. Матеріали наукової роботи Постой В. В. розглянуто на засіданні кафедри фізіології, біохімії та мікробіології Одеського державного аграрного університету і використовуються при викладанні матеріалу студентам з дисципліни «Ветеринарна імунологія», розділ «Клітинний імунітет» та у науковій роботі кафедри (протокол № 4 від 17 листопада 2020р. ).

Завідувач кафедри фізіології,  
біохімії та мікробіології,  
к. б. н., доцент

В. О. Найда

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.О. ректора Полтавської державної  
аграрної академії, д.с.-г.н., професор

Павло ПИСАРЕНКО

2020 р.

**КАРТКА ЗВОРОТНОГО ЗВ'ЯЗКУ**

1. Викладені в інформаційному листі дані дисертаційної роботи на тему: «Отримання трансфер-фактору на основі клітин молозива корів та імунобіологічні його властивості», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія», виконаної Постой Вікторією Вікторівною використовуються у навчальну процесі при викладанні дисципліни «Технологія виробництва продукції свинарства» у підготовці фахівців ОР «Бакалавр» зі спеціальності «Технологія виробництва продукції тваринництва».

2. Матеріали наукової роботи Постой В. В. розглянуто на засіданні кафедри технології виробництва продукції тваринництва і використовуються при викладанні матеріалу студентам з дисципліни «Технологія виробництва продукції скотарства», розділи «Технологія виробництва продукції скотарства» та в науковій роботі кафедри (протокол № від 2020 року).

Декан факультету технології виробництва  
продукції тваринництва,  
доктор сільськогосподарських наук,  
професор

Анатолій ПОЛЩУК



Затверджую:

Проректор з наукової роботи  
Сумського НАУ,  
д.с.н., професорЮ.І. Данько  
2020 р.

## Акт

про впровадження / використання результатів  
кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи Постой Вікторії Вікторівни на тему: «Отримання трансфер-фактору на основі клітин молозива корів та імунобіологічні його властивості», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія» впроваджено у навчальну програму при викладанні дисципліни «Ветеринарна мікробіологія та імунологія» стосовно способу перенесення імунітету у великої рогатої худоби на кафедрі епізоотології та паразитології у Сумському національному аграрному університеті при підготовці фахівців ОР «Бакалавр» зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина», протокол № 12 від 29.12.20 року.

## Погоджено:

Проректор з науково-педагогічної  
та навчальної роботи

В.М. Жмайлов

Декан факультету  
ветеринарної медицини

О.Л. Нечипоренко

Завідувач кафедри  
епізоотології та паразитології,  
д. вет. н., професор

О.І. Касяненко

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Перший проректор

Кибакало Д.В.



«30» листопада 2020 р

## КАРТКА ЗВОРОТНОГО ЗВ'ЯЗКУ

1. Викладені в інформаційному листі дані дисертаційної роботи на тему: «Отримання трансфер-фактору на основі клітин молозива корів та імунобіологічні його властивості», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія», виконаної Постой Вікторією Вікторівною використовуються у навчальну процесі при викладанні дисципліни «Ветеринарна імунологія» у підготовці фахівців ОР «Бакалавр» зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина».

2. Матеріали наукової роботи Постой В. В. розглянуто на засіданні кафедри мікробіології, вірусології та імунології Харківської зооветеринарної академії і використовуються при викладанні матеріалу студентам з дисципліни «Ветеринарна імунологія», розділ «Клітинний імунітет» та у науковій роботі кафедри (протокол №3 від 26 листопада 2020 р.).

Завідувач кафедри мікробіології,  
вірусології та імунології,  
доктор ветеринарних наук, професор,  
академік НААН України

Б. Т. Стегній

## «ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Інституту біології тварин  
НААН, доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник

 Ю. Т. Салига  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 р.



## КАРТКА ЗВОРОТНОГО ЗВ'ЯЗКУ

1. Викладені в інформаційному листі дані дисертаційної роботи на тему: «Отримання трансфер-фактору на основі клітин молозива корів та імунобіологічні його властивості», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія», виконаної Постой Вікторією Вікторівною використовуються у наукових дослідженнях лабораторії екологічної фізіології та якості продукції та лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН.

2. Інформаційний лист щодо результатів досліджень за темою дисертаційної роботи Постой В. В. розглянуто та схвалено на засіданні лабораторії екологічної фізіології та якості продукції (протокол № 14 від 15.12.2020) та лабораторії імунології (протокол №8 від 28.12.2020) Інституту біології тварин НААН.

Завідувач лабораторії екологічної  
фізіології та якості продукції,  
д. вет. н., с.н.с.



І. І. Ковальчук

Завідувач лабораторії імунології  
д.вет.н., професор



О.І. Вішур