

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ В ЦУЦЕНЯТ ЗАЛЕЖНО ВІД КРАТНОСТІ ВВЕДЕННЯ БІОЛОГІЧНОГО ПОДРАЗНИКА

М. М. БРОШКОВ, доктор ветеринарних наук, професор,

<https://orcid.org/0000-0002-9917-7257>

E-mail: mr_m_m@ukr.net

Т. М. ФЕДЬКАЛОВА, асистент, <https://orcid.org/0000-0001-8732-6123>

E-mail: fedkalovatatana@gmail.com

Одеський державний аграрний університет

О. І. ВІЩУР, доктор ветеринарних наук, професор, професор,

<https://orcid.org/0000-0003-4503-3896>

E-mail: inenbiol@mail.lviv.ua

Інститут біології тварин НААН

[https://doi.org/10.31548/dopovidi2\(102\).2023.001](https://doi.org/10.31548/dopovidi2(102).2023.001)

Анотація. Вивчення імунофізіологічних показників у цуценят у критичні періоди життя, у тому числі й за введення біологічного подразника, є актуальним напрямом сучасних досліджень. Актуальність пов'язана з постійною зміною імуногенних властивостей біологічного подразника, зниженням резистентності організму тварин унаслідок екологічних змін та відсутністю доступних методів оцінки імунного статусу цуценят після вакцинації. Мета досліджень полягала у визначенні динаміки показників клітинної ланки імунітету у цуценят залежно від кратності введення біологічного подразника.

Експеримент проводився на 10 цуценятах з одного виводка. Цуценят розділили на дві групи: перша – одноразове щеплення на 51 день життя; друга – дворазове щеплення на 28 і 51 добу життя. В якості біологічного подразника використовували вакцину Віосап DHPPI (Чехія).

Авторськими дослідженнями встановлено, що незалежно від кратності введення біологічного подразника в організмі цуценят відбувається «фізіологічний перехрест». В наявних наукових джерелах відсутня інформація щодо «фізіологічного перехресту» у собак за введення біологічного подразника, тому авторами були проведені відповідні дослідження для встановлення відповідного факту (чи його спростування). Але водночас варто зазначити, що біологічний подразник впливає на кількісний склад лімфоцитів та нейтрофілів. Це виражається в тому, що в групі цуценят, де вводили біологічний подразник збільшення кількості нейтрофілів було у 2 рази менше, ніж в іншій групі (де його не вводили на 28 добу). Незалежно від кратності введення біологічного подразника на 70 добу кількість нейтрофільних гранулоцитів та лімфоцитів у крові обох груп суттєво не відрізнялася та зберігала таку тенденцію упродовж наступних трьох тижнів спостереження. Встановлено, що введення

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

біологічного подразника цуценят спричинює імуносупресивний вплив на організм, про що свідчить зменшення у крові абсолютної кількості нейтрофілів та лімфоцитів. Водночас введення біологічного подразника не впливає на фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів крові.

«Фізіологічний перехрест», а саме зменшення абсолютної кількості лімфоцитів і збільшення нейтрофілів у крові цуценят відбувається після 28 доби життя незалежно від введення біологічного подразника. Подальші дослідження потребують вивчення доцільності дворазового введення вакцини в якості біологічного подразника в досліджених термінах.

Ключові слова: вакцина; лейкоцити, фагоцитарна активність нейтрофілів; цуценята; імуносупресія; «фізіологічний перехрест»

Актуальність дослідження.

Адаптація імунної системи до антигенного навантаження докільля – один з найважливіших фізіологічних чинників, що забезпечують нормальний розвиток тварини [12]. Індукція специфічної несприйнятливості (вакцинація) є одним із засобів захисту тварин від багатьох інфекційних захворювань. Сучасні рекомендації свідчать про те, що цуценят слід робити першу (або основну) вакцинацію за планом між 6- та 8-тижневим віком, а потім декілька наступних ін'єкцій, які проводяться з інтервалами в 3–4 тижні до 16-тижневого віку. Існує висока вірогідність того, що на цьому етапі рівень материнських антитіл може зменшуватися, тому їхня ймовірність втручатися в дію антигену вакцини є низькою [5, 15, 16]. Кількість введення вакцин необхідних під час цієї фази може змінюватися в залежності від віку, з якого розпочато протокол вакцинації [18]. З огляду на те, що титр специфічних антитіл (IgG) у

більшості випадків корелює із ступенем захищеності організму, кількісне визначення специфічних IgG можна розглядати як спосіб оцінки імунного захисту у вакцинованих і невакцинованих тварин [4]. Ця оцінка має важливе значення для зменшення кількості необхідних щеплень і виявлення можливих негативних наслідків від введення вакцини, але при цьому зменшуючи ймовірність сприйнятливих до інфекційних агентів тварин у популяції [8, 10].

Динаміка показників клітинного імунітету у цуценят упродовж перших двох місяців життя характеризується значним зниженням фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів крові у перші дні життя. Натомість поступовим (протягом перших 60 днів) збільшенням Т–супресорів та зменшенням В–лімфоцитів крові. Перший «фізіологічний перехрест» (зрівняння в певні періоди кількості лімфоцитів і нейтрофілів) у цуценят відбувається з 10-ї по 24-у доби

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

життя, що виражається у вирівнюванні відносної кількості лімфоцитів та фагоцитуючих нейтрофілів у межах 39–42 % [1].

Отже, вивчення імунофізіологічних показників у цуценят у критичні періоди розвитку, в т.ч. і за введення біологічного подразника, є актуальним як у науковому так і прикладному напрямку сучасних досліджень. Це може бути пов'язане зі зміною імуногенних властивостей біологічного подразника, зниженням опірності організму тварин та відсутністю доступних методів оцінки імунного стану цуценят за введення вакцини.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Вірусні інфекційні захворювання в умовах сьогодення продовжують бути основною причиною захворюваності та смертності серед популяції собак у всьому світі [6]. Універсальним способом профілактики та захисту від інфекційних агентів вірусного походження є введення біологічного подразника (вакцини), але немає науково визначеного критерію щодо кратності його введення та методів оцінки імунного статусу собак перед введенням. Результати досліджень які проведені в Німеччині, свідчать про те, що імунний статус собак після введення біологічного подразника не забезпечив захист тварин від хвороби в подальшому [18].

Більшість сучасних схем вакцинації тварин передбачає первинну вакцинацію, за якою пізніше йде повторна вакцинація [8]. В інших дослідженнях акцентується увага на тому, що однією з унікальних особливостей собак є їх надзвичайна варіація розмірів, а це створює проблеми пов'язані із введенням однакової дози вакцини всім собакам, незалежно від їхнього розміру [14]. Також триває дискусія щодо кратності введення біологічного подразника та впливу материнських антитіл на формування імунної відповіді [9].

Мета досліджень полягала у визначенні динаміки показників клітинної ланки імунітету у цуценят залежно від кратності введення біологічного подразника (БП).

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведено на кафедрі фізіології, патофізіології та біохімії Одеського державного аграрного університету. Окремі етапи досліджень були виконані в умовах лабораторії імунології ДП «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова» та багатопрофільної лабораторії ветеринарної медицини ОДАУ.

Дослід проведено на 10 цуценятах одного виводку породи середньоазіатська вівчарка. Цуценята були поділені на дві групи: перша – однократне введення вакцини у 51-добовому віці; друга –

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

двократне введення вакцини на 28 та 51-шу доби життя. В якості біологічного подразника застосовували двовалентну вакцину Біокан Рурру (Чехія), яка містить живий атеінурований вірус чуми всеїдних та інактивований вірус парвовірусного ентериту собак. Вакцину вводили підшкірно в рекомендованій виробником дозі.

Для проведення імунологічних досліджень використовували кров, яку брали у цуценят з яремної вени у 7-, 14-, 28-, 51-, 71- і 90-добовому віці. На 28 та 51 доби дослідження кров відбирали безпосередньо за 5 хвилин до введення БП.

У стабілізованій гепарином крові визначали абсолютну кількість лейкоцитів, нейтрофілів, моноцитів, лімфоцитів та фагоцитарну активність нейтрофілів.

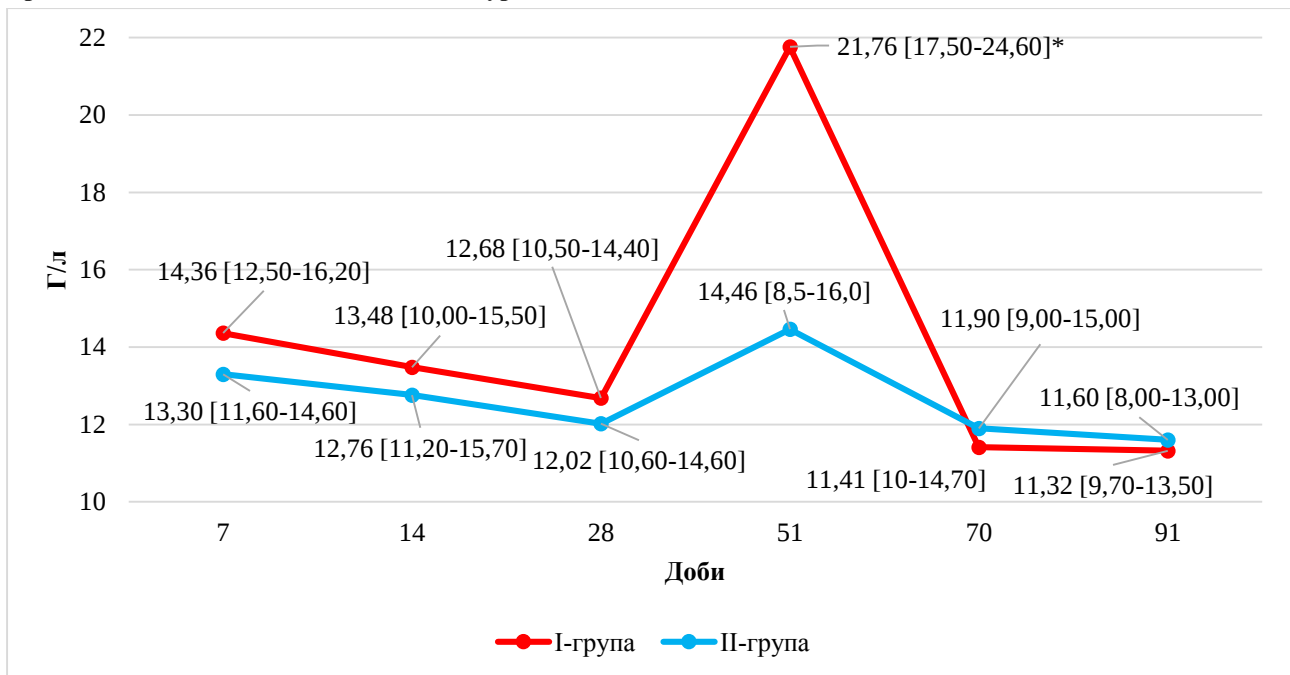
Визначення абсолютної кількості лейкоцитів, нейтрофілів, моноцитів та лімфоцитів проводили за допомогою гематологічного аналізатора BC-2800Vet фірми MINDRAY. Одиниця виміру представлених даних – Г/л.

Визначення фагоцитарної активності нейтрофілів (ФАН) проводили за методикою [2]. У якості об'єкту фагоцитозу застосовували

0,1%-ову суспензію клітин інактивованих пекарських дріжджів. У препаратах підраховували кількість фагоцитуючих нейтрофілів на 50 нейтрофілів. За фагоцитуючу вважали клітину (нейтрофіл), що поглинула 1 та більше дріжджових клітин.

Отримані результати досліджень виражали як медіану [мінімум-максимум] за допомогою програмного забезпечення PRIMER. Після порівняння досліджуваних параметрів та їх міжгрупових відмінностей використовували критерій Манна-Уїтні, а результат вважали вірогідним при $P \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. **Результати дослідження вмісту абсолютної кількості лейкоцитів (АКЛ).** Відомо, що одним з базових показників реактивності імунної системи є кількість лейкоцитів, яка вказує на загальний стан імунної системи, а саме прояв імуносупресії або імуноагресії. З наведених на рисунку 1 даних бачимо, що абсолютна кількість лейкоцитів (АКЛ) у крові цуценят, як першої так і другої груп упродовж першого місяця життя мала тенденцію до зниження.



Примітка. На цьому та інших рисунках вірогідна різниця між групами: * $P \leq 0,05$.

Рис. 1. Динаміка АКЛ у крові цуценят упродовж 90 діб життя та за різної кратності введення біологічного подразника

Незначна різниця в АКЛ на 7 добу життя між двома групами не відображає жодної закономірності і є лише середнім арифметичним значенням умовно підібраних груп. У динаміці впродовж тижня, а саме на 14 добу життя у крові цуценят обох груп зафіксовано тенденцію до зниження АКЛ, в середньому на 5 %. Подібні зміни виявлено також у 28-добовому віці, а саме АКЛ у крові тварин обох груп зменшилась в середньому на 6 %, відносно 14 доби. Натомість упродовж наступних трьох тижнів констатовано зростання АКЛ. При цьому вказані зміни були виражені більшою мірою у крові цуценят першої групи, особливо у 51-добовому віці. Так, у крові цуценят першої і другої груп АКЛ у 51-добовому віці була відповідно в 1,7 і

1,2 рази більша, ніж у 28-добовому віці. Разом з цим необхідно зауважити, що у вказаний період досліджень АКЛ у крові цуценят першої групи була в 1,5 рази більша, ніж у другій. На 51-у добу цуценят другої групи повторно вводили БП, а першу групу вакцинували вперше, що призвело (на 70-ту добу) до зниження АКЛ у крові цуценят у першій групі майже вдвічі (11,41 Г/л), а у цуценят другої групи – 1,2 разу (11,9 Г/л). Результати цих досліджень свідчать про те, що введення БП істотно впливає (51 день) на абсолютну кількість лейкоцитів крові цуценят.

Результати дослідження вмісту абсолютної кількості нейтрофілів крові та їх фагоцитарної активності. Нейтрофіли є високорухливими

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

фагоцитами, які слугують початковими ефекторами проти патогенів і активно залучаються до місць запалення. Хемоатрактанти скеровують їх до місця запалення, а їх взаємодія з ендотеліальними

клітинами направляє їх через посткапілярні венули в тканини [11]. Динаміка кількісних змін популяції нейтрофілів протягом дослідного періоду представлена на рисунку 2.

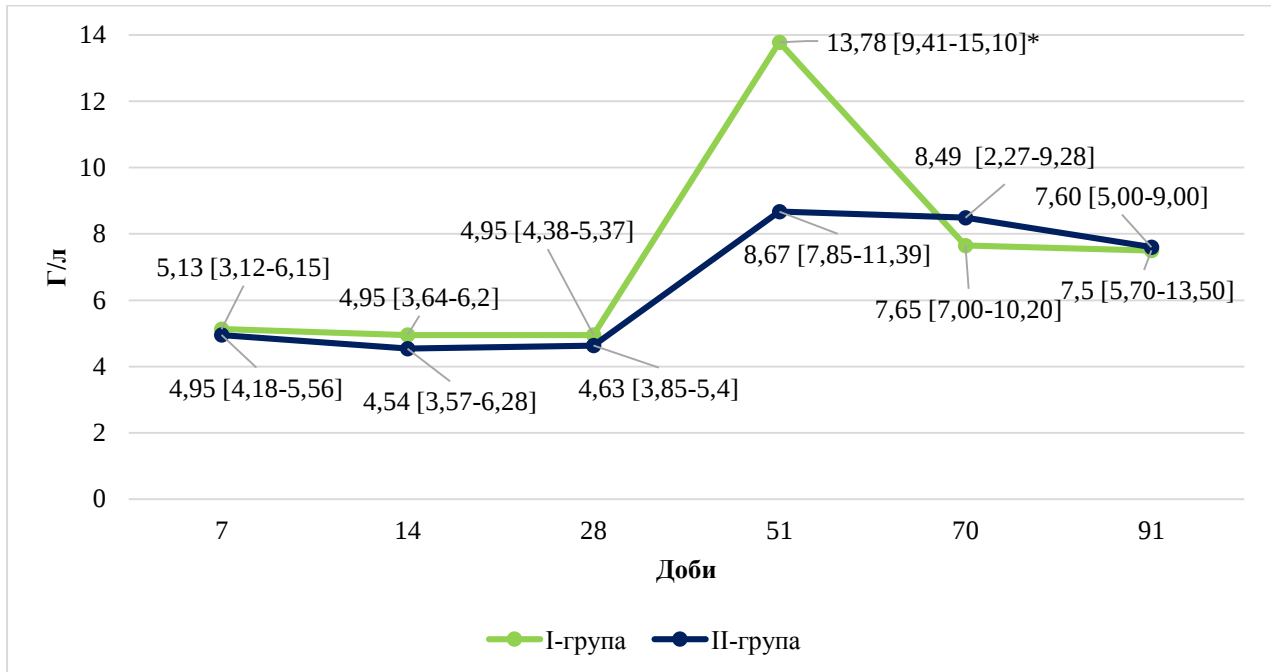


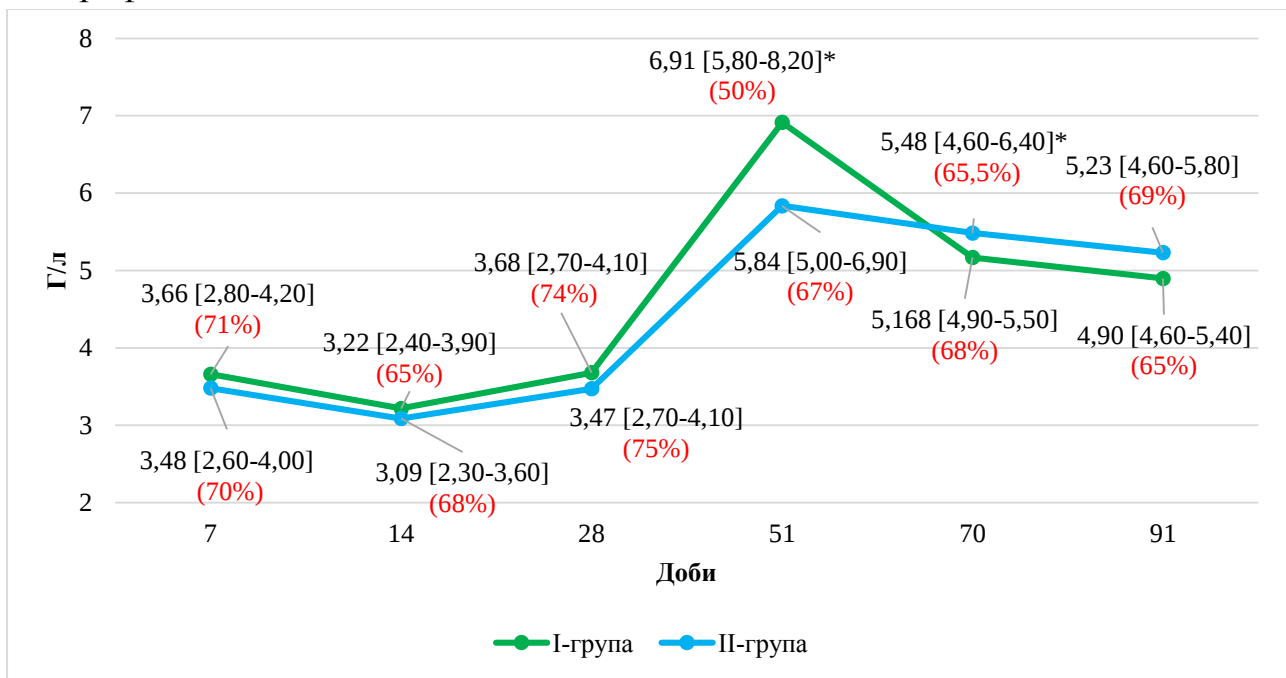
Рис. 2. Динаміка абсолютної кількості нейтрофілів у крові цуценят упродовж перших 90 днів життя та за різної кратності введення біологічного подразника

З даних цього рисунку бачимо, що впродовж першого місяця постнатального періоду, абсолютна кількість нейтрофілів у крові цуценят обох груп була майже однакова, різниця між групами була в межах 0,2–0,7 Г/л. Починаючи з 28 доби зафіксовано значне збільшення кількості нейтрофілів у крові цуценят, подібно як при визначенні кількості лейкоцитів. Так, у 51-добовому віці абсолютна кількість нейтрофілів у крові цуценят першої і другої дослідної груп була відповідно в 2,8 ($P \leq 0,05$) і 1,9 рази більша, ніж у 28-

добовому віці. Водночас кількість нейтрофілів у крові цуценят першої дослідної групи у цей період досліджень була в 1,6 рази більша, ніж у другій групі.

Протягом наступного періоду досліджень констатовано зниження цього показника і на 90 добу в першій та другій групах він був майже однаковий. Саме на третій місяць після народження у цуценят закінчується формування органів імунної системи і її параметри вирівнюються з дорослими [18]. Імовірно з цим пов'язано вирівнювання

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

кількісного вмісту в крові
нейтрофілів.Примітка: * $p \leq 0,05$ достовірна різниця між групами;

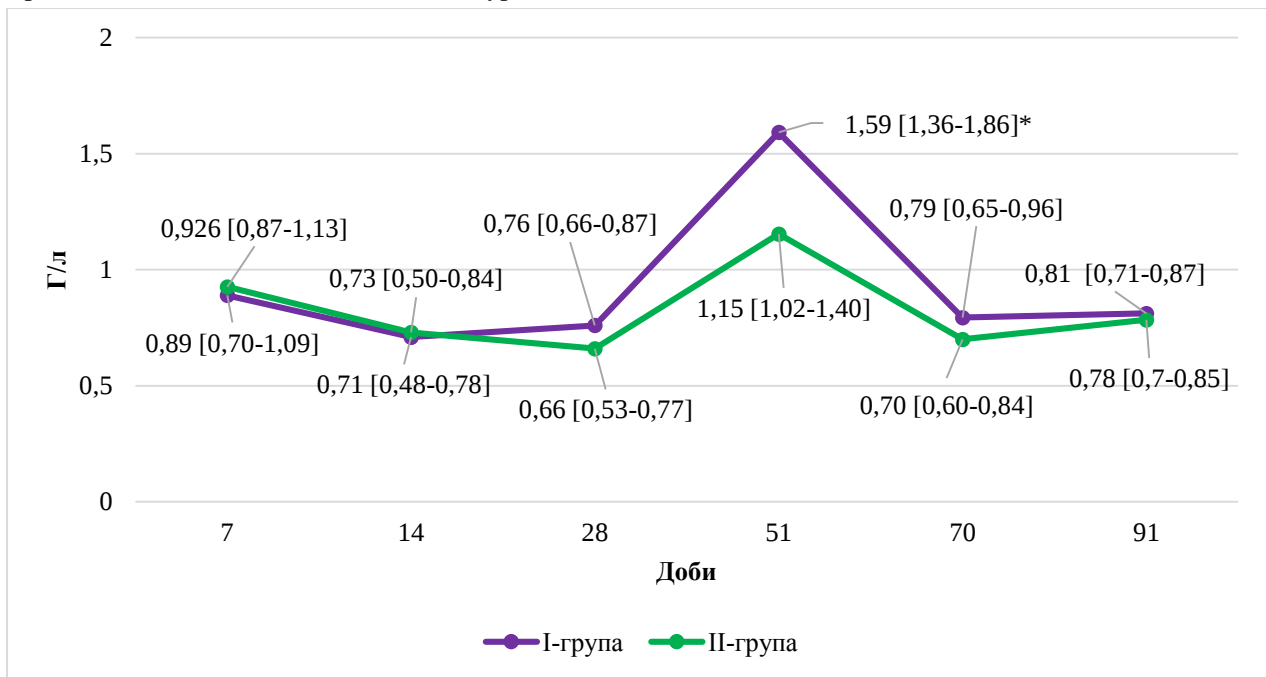
***червоним показано відносний показник ФАН по відношенню до загальної кількості нейтрофілів.

Рис. 3. Динаміка показника ФАН в крові цуценят протягом перших 90 днів життя та за різної кратності введення біологічного подразника.

Подібну динаміку змін отримано при дослідженні фагоцитарної активності нейтрофілів (ФАН) у крові цуценят (рис. 3). Як бачимо з даних рисунка фагоцитарна активність нейтрофілів у крові цуценят обох груп до 28-добового віку мала однакову динаміку. У 51-добовому віці констатовано підвищення ФАН, при цьому ці зміни були виражені більшою мірою у крові цуценят першої групи. При цьому, ФАН у крові цуценят першої і другої дослідної груп була відповідно в 1,9 ($P \leq 0,05$) і 1,68 рази більша, ніж у 28-

добовому віці. В інші досліджувані періоди в обох групах цей показник фагоцитозу коливався від 65 до 75 %.

Результати дослідження вмісту абсолютної кількості моноцитів. Моноцити є "професійними" фагоцитами. Здатність до фагоцитозу в них виражена більше, ніж у інших лейкоцитів. Для розпізнавання чужорідних агентів моноцити використовують низку лектинових рецепторів, а також рецептори до C3b-компонента комплементу та Fc-фрагментів антитіл [3].

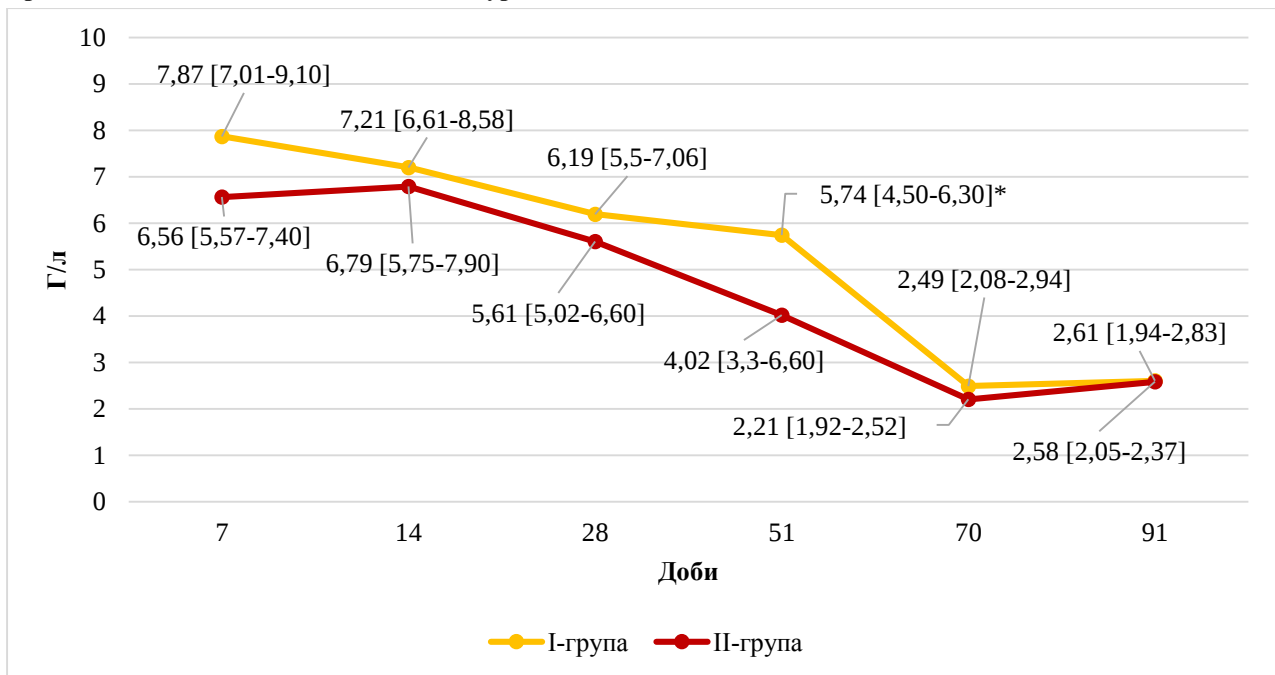


Примітка: * $p \leq 0,05$ достовірна різниця між групами

Рис 4. Динаміка абсолютної кількості моноцитів у крові цуценят упродовж перших 90 днів життя та за різної кратності введення біологічного подразника

З наведених на рисунку 4 результатів досліджень бачимо, що динаміка кількості моноцитів у крові цуценят подібна до даних з визначення кількості нейтрофільних гранулоцитів. Абсолютна кількість моноцитів у крові цуценят першої і другої груп протягом першого місяця життя була майже однакова. Впродовж наступних трьох тижнів абсолютна кількість моноцитів у крові цуценят обох груп збільшується, особливо у тварин першої групи. Подальша динаміка свідчить про зниження кількості моноцитів у крові цуценят обох груп і відсутність істотних різниць між групами.

Результати дослідження вмісту абсолютної кількості лімфоцитів. Відомо, що у формуванні та регуляції імунної відповіді в організмі тварин важливе значення надається лімфоцитам та їх популяціям, як головним клітинам імунної системи. Популяція лімфоцитів різноманітна і містить як клітини вродженого імунітету (NK-клітини), так і адаптивного – Т- та В-лімфоцити. Аналіз отриманих результатів досліджень показав, що абсолютна кількість лімфоцитів на відміну від інших клітин мала чітку тенденцію до зниження, починаючи з 14- і до 70-добового віку (рис 5).



Примітка: * $p \leq 0,05$ достовірна різниця між групами

Рис. 5. Динаміка абсолютної кількості лімфоцитів в крові цуценят упродовж перших 90 днів життя та за різної кратності введення біологічного подразника

Ці зміни були виражені більшою мірою у другій групі цуценят, особливо після введення БП у 28-добовому віці, де констатовано значне зниження популяції цих клітин. У крові цуценят першої групи динаміка абсолютної кількості лімфоцитів впродовж дослідження була подібною. Водночас, у 51-добовому віці абсолютна кількість лімфоцитів у крові цуценят першої групи була в 1,4 разу більша, ніж у тварин другої групи. У наступні періоди досліджень кількість лімфоцитів у крові цуценят була майже однакова в обох групах.

Результати порівняння динаміки абсолютної кількості нейтрофілів та лімфоцитів. З інших результатів досліджень, отриманих у цьому експерименті,

особливе зацікавлення представляють дані про співвідношення між нейтрофілами і лімфоцитами [3].

Проведені авторські дослідження (рис. 6, 7) підтверджують факт, що у крові обох груп цуценят не залежно від кратності введення біологічного подразника відбувся «фізіологічний перехрест» між нейтрофілами і лімфоцитами у проміжку між 28 та 51 добою. Тобто введення біологічного подразника не вплинуло на такий маркер фізіологічної адекватності розвитку імунної системи як «фізіологічний перехрест». У наших попередніх дослідженнях динаміки імунофізіологічних показників клітинної ланки імунітету у цуценят породи доберман, показано, що цей

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

«перехрест» відбувся з 20 по 24 доби життя [1].

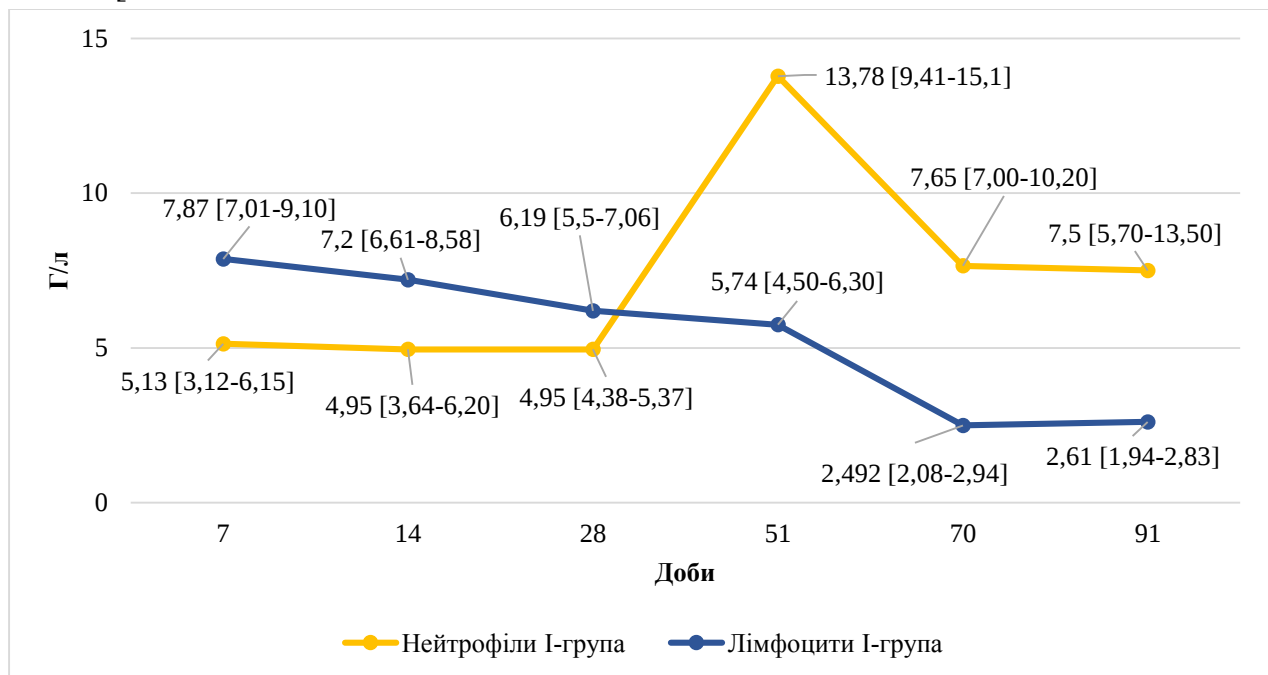


Рис. 6. Динаміки абсолютної кількості нейтрофілів та лімфоцитів в першій групі тварин

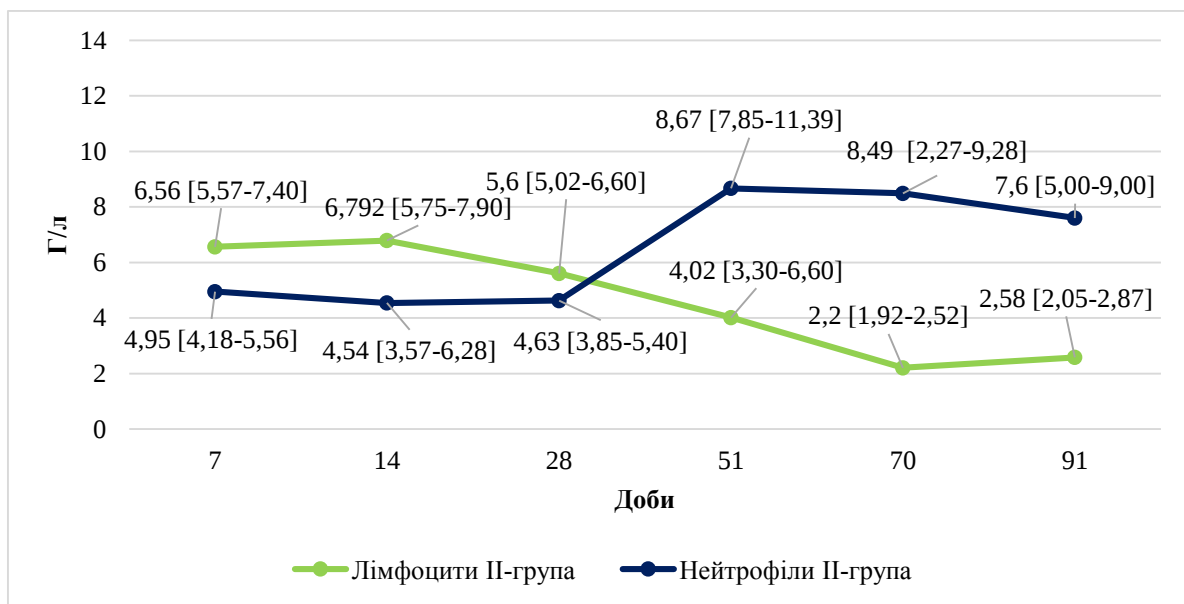


Рис. 7. Динаміки абсолютної кількості нейтрофілів та лімфоцитів в другій групі тварин

Імовірно, цей показник є критерієм оцінки якісного перебігу формування імунної системи, який залежить від впливу чисельних

чинників, пов'язаних із породою, особливостями догляду та іншими чинниками. Як бачимо з даних, неведених на рисунках 6 і 7, у цуценят

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

першої групи, яким у 28-добовому віці не вводили біологічний подразник, виходячи з аналізу попередніх результатів, зафіксовано значне, більше ніж у 2 рази, збільшення нейтрофільних гранулоцитів крові на 51 добу.

Дослідження динаміки показників клітинного імунітету в цуценят упродовж трьох місяців після народження проведено з метою виявлення закономірностей змін популяційного складу імунокомпетентних клітин, що дасть можливість прогнозування неадекватної імунної відповіді під час введення біологічного подразника.

Авторськими дослідженнями визначено, що після народження співвідношення окремих видів лейкоцитів у лейкограмі крові відрізняється від тварин дорослого віку, а саме кількість нейтрофілів є меншою стосовно лімфоцитів. У новонароджених співвідношення між цими клітинами приблизно таке як і у дорослих. У перші дні життя кількість нейтрофілів починає швидко знижуватися, а кількість лімфоцитів – збільшуватись. Така динаміка зберігається впродовж місяця. У подальшому, відбуваються фізіологічні зміни, унаслідок яких кількість нейтрофілів різко збільшується, а лімфоцити зберігають тенденцію до зниження. З даних літератури відомо, що цей процес відбувається завдяки кількісному збільшенні лімфоїдної тканини

(аденоїди, мигдалини, лімфатичні вузли), у результаті чого імунна система організму поступово набуває типових для неї характеристик [3]. Проведені нами експериментальні дослідження показали, що введення цуценятм другої групи у 28-добовому віці БП (вакцини) спричинило імуносупресивний вплив на організм. Про що вказує більш виражене збільшення кількості нейтрофілів у першій групі (у порівнянні з другою) та менш виражене зниження абсолютного числа лімфоцитів в першій групі (у порівнянні з другою) упродовж трьох тижнів після ін'єкції. Імуносупресивний вплив БП також підтверджується і у тварин першої групи. Зокрема, після введення вакцини у 51-добовому віці у крові цуценят виявлено значне зниження кількості нейтрофілів і лімфоцитів. У попередніх наших дослідженнях показано імуnoreгуляторний вплив БП на кількість імунокомпетентних клітин у крові цуценят. Зокрема констатовано обернену залежність між кількістю лейкоцитів у крові цуценят до і після введення БП і їх рівнем після імунізації. Так, у цуценят, у яких встановлено високі кількісні показники лейкоцитів, після введення БП спостерігалось їх зменшення і навпаки [1]. Імуносупресивний вплив БП на організм собак зафіксовано також іншими авторами [6]. Результати, отримані іншими авторами, під час

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

дослідження реакції організму собак на введення БП полягали в тому, що значне поствакцинальне зниження мітогенної відповіді Т-клітин на ФГА, функції нейтрофілів і концентрації неоптерину в сироватці крові супроводжувалось одночасним підвищенням рівня IgG у плазмі та активністю гемолітичного комплекменту. Автори стверджують, що імуносупресія була опосередкована зсувом у балансі між клітинно-опосередкованим і гуморальним (Т(Н)1/Т(Н)2) імунітетом [13]. Водночас необхідно зауважити, що за двократного введення БП динаміка зменшення популяції імунокомпетентних клітин мала поступовий характер, а за однократного введення сальтаторний.

Динаміка кількості моноцитів (як клітин попередників системи мононуклеарних фагоцитів (MPS) у крові цуценят загалом була подібна до динаміки нейтрофілів, хоча ці клітини відносяться до агранулоцитів. Є також імовірність того, що вказана динаміка пов'язана з неприродним потраплянням в організм цуценят БП.

З огляду на це, імуносупресивний вплив БП вочевидь є неминучою реакцією організму на його введення тому подальші наші дослідження будуть скеровані на визначення імунопротективних властивостей фармакологічних засобів імунотропної дії. Проведені

експериментальні дослідження є підґрунтям для використання отриманих результатів у подальших дослідженнях імунобіологічної реактивності організму цуценят, а також слугуватимуть у якості моделі та біологічно обґрунтованого підходу для застосування вакцин, як біологічного подразника.

Висновки і перспективи.

Встановлено, що введення біологічного подразника цуценят спричинює імуносупресивний вплив на організм, про що свідчить зменшення у крові абсолютної кількості нейтрофілів на 19,4 % та лімфоцитів 21 %. Водночас за введення біологічного подразника зменшення абсолютної кількості нейтрофілів не вплинуло на їх фагоцитарну активність. Цей показник на 17 % був більшим за введення біологічного подразника.

«Фізіологічний перехрест», а саме зменшення абсолютної кількості лімфоцитів і збільшення нейтрофілів у крові цуценят відбувається після 28 доби життя. Введення біологічного подразника в цей період викликає менш виражене зменшення кількості лімфоцитів і збільшення нейтрофілів у крові цуценят. Подальші дослідження потребують обґрунтування доцільності дворазового введення вакцини в якості біологічного подразника в досліджених термінах.

Список використаних джерел

Брошков М. М., Федькалова Т. М., Віщур О. І.

1. Брошков М. М. Імунний статус організму собак залежно від фізіологічних особливостей його корекції : дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.13. / Національний університет біоресурсів та природокористування. Київ, 2016. 310 с.

2. Дегтяренко Т. В., Макулькін Р.Ф. Біогенні стимулятори та імунореактивність. Одеса : Маяк, 1997. 286 с.

3. Казмірчук В.Є., Ковальчук Л.В., Мальців Д.В.. Клінічна імунологія та алергологія з віковими особливостями. Київ: ВСІ «Медицина», 2012. 520 с.

4. Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs/ A. L. Litster et al. *Veterinary journal*. 2012, №193(2), P. 363–366. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.01.027>

5. Age and long-term protective immunity in dogs and cats / R.D. Schultz et al. *Journal of comparative pathology*. 2010. №142, P.102–108. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2009.10.009>

6. Antibody Response to Canine Parvovirus Vaccination in Dogs with Hyperadrenocorticism Treated with Trilostane / M. Bergmann et al. *Vaccines*. 2020. №8(3), 547. <https://doi.org/10.3390/vaccines8030547>

7. Birth weight as a risk factor for neonatal mortality: Breed-specific approach to identify at-risk puppies/ A. Mugnier et al. *Preventive veterinary medicine*. 2019. №171, 104746. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104746>

8. Controlled release vaccine implants for delivery of booster immunisations / Freya A. Russell et al. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2022. №253, 10484. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2022.110484>.

9. Development of Dog Immune System: From in Uterus to Elderly / M. Pereira et al. *Veterinary sciences*. 2019. №6(4), P.83. <https://doi.org/10.3390/vetsci6040083>

10. Tizard I. R. The administration of vaccines. *Vaccines for Veterinarians*. 2021. №87, P.104. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-68299-2.00017-4>

11. Hostetter S. J. Neutrophil function in small animals. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*. 2012.

№42(1), P. 157-171. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.09.010>

12. MacGillivray D. M., Kollmann T. R. The role of environmental factors in modulating immune responses in early life. *Frontiers in immunology*. 2014. №5. P.434. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00434>

13. Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs/ A. Strasser et al. *Veterinary immunology and immunopathology*. 2003. №94(3-4). P. 113–121. [https://doi.org/10.1016/s0165-2427\(03\)00086-2](https://doi.org/10.1016/s0165-2427(03)00086-2)

14. Novel Vaccine Technologies in Veterinary Medicine: A Herald to Human Medicine Vaccines/ Aida Virginia et al. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. №8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.654289>

15. Niewiesk S. Maternal antibodies: clinical significance, mechanism of interference with immune responses, and possible vaccination strategies. *Frontiers in immunology*. 2014. №5, P.446. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00446>

16. Protection against canine parvovirus type 2 infection in puppies by colostrum-derived antibodies / H. Mila et al. *Journal of nutritional science*. 2014. №3, P.54. <https://doi.org/10.1017/jns.2014.57>

17. Schultz R. D. Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. *Veterinary microbiology*. 2006. №117(1), P. 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.04.013>

18. WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats/ M.J Day et al. *Journal of small animal practice*. 2016. №57(1), P. 1-45. https://doi.org/10.1111/jsap.2_12431

References

1. Broshkov M. M. (2016). *Immune status of dog depending on the physiological features of its correction* (Doctoral dissertation, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine).

2. Degtyarenko, T. V. & Makulkin, R. F. (1997). *Biogenic stimulants and immunoreactivity*. Odesa: Mayak.

3. Kazmirchuk, V.I., Kovalchuk, L.V., Maltsiv, D.V. (2012) *Clinical immunology and allergology with age-related features*. Kiev: VSI “Meditsina”.

4. Litster, A., Pressler, B., Volpe, A. & Dubovi, E. (2012). Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs. *Veterinary journal*, 193(2), 363–366. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.01.027>
5. Schultz, R. D., Thiel, B., Mukhtar, E., Sharp, P. & Larson, L. J. (2010). Age and long-term protective immunity in dogs and cats. *Journal of comparative pathology*, 142 Suppl 1, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2009.10.009>
6. Bergmann, M., Freisl, M., Hartmann, K., Speck, S., Truyen, U., Zablotzki, Y., Mayr, M., & Wehner, A. (2020). Antibody Response to Canine Parvovirus Vaccination in Dogs with Hyperadrenocorticism Treated with Trilostane. *Vaccines*, 8(3), 547. <https://doi.org/10.3390/vaccines8030547>
7. Mugnier, A., Mila, H., Guiraud, F., Brévaux, J., Lecarpentier, M., Martinez, C., Mariani, C., Adib-Lesaux, A., Chastant-Maillard, S., Saegerman, C., & Grellet, A. (2019). Birth weight as a risk factor for neonatal mortality: Breed-specific approach to identify at-risk puppies. *Preventive veterinary medicine*, 171, 104746. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104746>
8. Russell, F. A., Trim, L. K., Savi, F. M., Simon, C., Dargaville, T. R., Hutmacher, D. W., & Beagley, K. W. (2022). Controlled release vaccine implants for delivery of booster immunisations. *Veterinary immunology and immunopathology*, 253, 110484. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2022.110484>
9. Pereira, M., Valério-Bolas, A., Saraiva-Marques, C., Alexandre-Pires, G., Pereira da Fonseca, I., & Santos-Gomes, G. (2019). Development of Dog Immune System: From in Uterus to Elderly. *Veterinary sciences*, 6(4), 83. <https://doi.org/10.3390/vetsci6040083>
10. Tizard, I. R. (2021). The administration of vaccines. *Vaccines for Veterinarians*, 87, 104. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-68299-2.00017-4>
11. Hostetter, S. J. (2012). Neutrophil function in small animals. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 42(1), 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.09.010>
12. MacGillivray, D. M., & Kollmann, T. R. (2014). The role of environmental factors in modulating immune responses in early life. *Frontiers in immunology*, 5, 434. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00434>
13. Strasser, A., May, B., Teltscher, A., Wistrela, E., & Niedermüller, H. (2003). Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Veterinary immunology and immunopathology*, 94(3-4), 113–121. [https://doi.org/10.1016/s0165-2427\(03\)00086-2](https://doi.org/10.1016/s0165-2427(03)00086-2)
14. Aida, V., Pliasis, V. C., Neasham, P. J., North, J. F., McWhorter, K. L., Glover, S. R., & Kyriakis, C. S. (2021). Novel Vaccine Technologies in Veterinary Medicine: A Herald to Human Medicine Vaccines. *Frontiers in veterinary science*, 8, 654289. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.654289>
15. Niewiesk, S. (2014). Maternal antibodies: clinical significance, mechanism of interference with immune responses, and possible vaccination strategies. *Frontiers in immunology*, 5, 446. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00446>
16. Mila, H. et al. (2014). Protection against canine parvovirus type 2 infection in puppies by colostrum-derived antibodies. *Journal of nutritional science*, 3, 54. <https://doi.org/10.1017/jns.2014.57>
17. Schultz, R. D. (2006). Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. *Veterinary microbiology*, 117(1), 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.04.013>
18. Day, M. J., Horzinek, M. C., Schultz, R. D., Squires, R. A., & Vaccination Guidelines Group (VGG) of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) (2016). WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *The Journal of small animal practice*, 57(1), E1–E45. https://doi.org/10.1111/jsap.2_12431

DYNAMICS OF INDICATORS OF CELLULAR IMMUNITY IN PUPPIES DEPENDING ON THE MULTIPLICITY OF INTRODUCTION THE BIOLOGICAL STIMULUS

M. M. Broshkov, T. M. Fedkalova, O. I. Vishchur

Abstract. *Study of immune-physiological indicators in puppies in critical periods of life, including and for the introduction of a biological stimulus, is an actual direction of modern researches. Actuality is related to a change in immunogenic properties of biological stimulus, a decrease in resistance of animal body, and lack of available methods for assessing the immune status of puppies after vaccination.*

The purpose of the research was to determine the dynamics of indicators of the cellular link of immunity in puppies depending on the frequency of a biological stimulus introduction.

The experiment was conducted on 10 puppies from one brood. Puppies were divided into two groups: I – single vaccination at 51 days of life was done; II - two-time vaccination on the 28th and 51st days of life was done. Biocan DHPPi vaccine (Czech Republic) was used as a biological stimulus.

Authors' research established that regardless of the frequency of biological stimulus introduction, a physiological crossover occurs in the body of puppies. However, it should be noted that the biological stimulus affects the quantitative composition of lymphocytes and neutrophils. This is expressed in the fact that in the group of puppies, where the biological stimulus was administered, the increase in the number of neutrophils was 2 times less than in the other group (where it was not administered on the 28th day). Regardless of frequency of the biological stimulus introduction on 70 days, the number of neutrophil granulocytes and lymphocytes in the blood of both groups did not differ significantly and maintained this trend during the next three weeks of observation.

It was established that the administration of biological stimulus to puppies causes an immunosuppressive effect on the body, as evidenced by a decrease in the absolute number of neutrophils and lymphocytes in the blood. At the same time, administration of biological stimulus does not affect the phagocytic activity of blood neutrophil granulocytes.

Physiological crossover, namely a decrease in the absolute number of lymphocytes and an increase in neutrophils in the blood of puppies occurs after 28 days of life without connection to administration of biological stimulus. Further research is needed to study the feasibility of a two-time administration of the vaccine as a biological stimulus in the studied terms.

Key words: *vaccine; phagocytic activity of neutrophils; puppies; immunosuppression; physiological overlap*