

**STATUTUL IMUN AL PURCEILOR OBȚINUȚI DE LA SCROAFE
CU ADMINISTRAREA REMEDIULUI „APIFITOSTIMULINĂ”
ÎN PERIOADA POSTNATALĂ TIMPURIE**

Natalia DONICA

Universitatea Agrară de Stat din Moldova

The administration of „Apifitostimulin” in gestating sows led to increase of the immunobiological status of newborn pigs. At the 3rd day of their life the increase of immunoglobulins IgA, IgG, IgM and T-Lymphocytes in serum was registered to compare with the control group of animals.

Introducere

Pe plan mondial, în ultimii ani s-au întreprins ample acțiuni în vederea folosirii pe scară tot mai largă a produselor naturale în scopul menținerii sănătății omului. În acest context, oamenii de știință au inițiat diferite cercetări privind albina și stupul, în vederea valorificării integrale a tuturor produselor oferite de acestea: propolis, polen, păstură, miere și ceară – produse cu un bogat conținut de principii active ce joacă un rol tot mai de seamă în protejarea sănătății omului [1].

La Catedra Biotehnologiei în Zootehnie a Universității Agrare de Stat din Moldova, cu participarea noastră, în baza apifitoproductelor a fost asamblat remediul „Apifitostimulină”, preconizat pentru utilizarea în sectorul zooveterinar în scopul ameliorării rezistenței organismului, precum și al optimizării indicilor imunității celulare și umorale.

Scopul studiului – cercetarea influenței remediului asupra statutului imun la descendenții obținuți de la scroafe cu administrarea remediului „Apifitostimulină” e deosebit de actuală, având totodată o importanță atât științifică, cât și practică.

Material și metode

Investigațiile au fost efectuate în cadrul Catedrei Biotehnologiei în Zootehnie a Universității Agrare de Stat din Moldova în perioada 2006-2009. Partea experimentală s-a realizat în cadrul unei ferme particulare din c.Codreanca, r-nul Strășeni. Experimentului au fost supuse 10 scroafe și 101 purcei. După principiul analogic, scroafele au fost împărțite în două grupe. Prima grupă-experiment (n=5). La a 100-a zi de la începutul gestației, scroafelor li s-a administrat remediul „Apifitostimulină” în doză de 0,04 ml/kg masă vie, de două ori succesiv, la un interval de 10 zile. Animalelor din grupa martor (n=5) li s-a administrat, în aceleași termene, doze și intervale, soluție fiziologică NaCl. Înainte de administrare și în cea de-a 12-a zi după a doua administrare, de la scroafele supuse experimentului și de la cele din grupa martor s-au recoltat probe de sânge.

Asupra descendenților obținuți de la scroafele din ambele grupe – experiment și martor – s-au efectuat supravegheri permanente. Supraveghețile s-au redus: la viabilitatea numărului de descendenți în lot de la fiecare scroafă din ambele grupe, masa vie a corpului în dinamică, începând cu ziua fătării, în ziua a 3-a și în a 21-a de la naștere, la momentul înțărării, precum și la cea de-a 7-a zi după înțărare, s-a calculat adaosul zilnic al masei vii a corpului.

Pentru studierea influenței remediului „Apifitostimulină” asupra metabolismului indicilor hematologici, masei vii a corpului, viabilității purceilor sugari au fost organizate 3 loturi de purcei a câte 5 în fiecare, după principiul grupelor analoage. Animalelor din grupa I în ziua a 3-a și a 10-a după naștere le-au fost administrate intramuscular câte 1,5 ml/kg masă vie a corpului de remediul. Celor din grupa a II-a remediul le-a fost administrat „per os”, în doză de 5,0 ml/kg de masă vie. Lotul al 3-lea a servit drept martor și, în schimbul „Apifitostimulinei”, li s-a administrat 1,5 ml/kg de soluție fiziologică.

Rezultate și discuții

1. Dinamica concentrației imunoglobulinei A (mg/dl)

La ziua a 3-a de la naștere a purceilor din grupa martor conținutul de Ig A în medie pe grupă alcătuiește 23,3±5,2 (mg/dl). Pe parcurs, nivelul lui sporește cu 13,3 (mg/dl), (M=36,6±1,3 (mg/dl), (td=2,5; P>0,02). În prima grupă experiment de asemenea sporește cu 4,0 (mg/dl), (M=34,2±2,6 (mg/dl)), însă ea nu este autentică

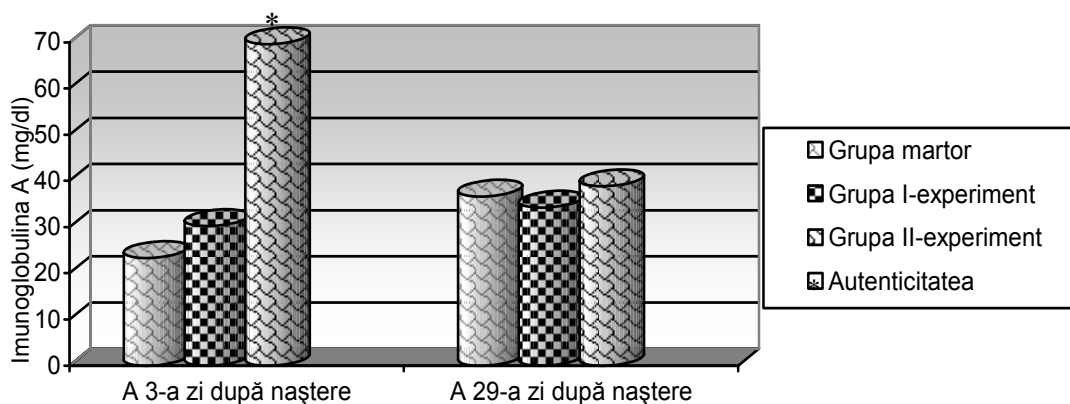
($td=0,8$; $P>0,05$). Cele mai semnificative schimbări sunt înregistrate în grupa a II-a-experiment. Astfel, dacă la inițierea investigațiilor nivelul Ig A în medie pe grupă se cifrează la $69,6\pm 13,8$ (mg/dl), apoi la finele lor concentrația de imunoglobuline diminuează practic dublu – cu $30,8$ (mg/dl), ($M=38,8\pm 1,6$ (mg/dl)), ($td=2,3$; $P<0,05$).

Analiza comparativă între grupe denotă că animalele din grupa martor la începutul experimentului dețin o cantitate de imunoglobuline în medie pe grupă cu $6,9$ (mg/dl) mai puțin față de cele din grupa-experiment și cu $30,8$ (mg/dl) comparativ cu cele din a II-a grupă. Ambele schimbări se fixează cu un înalt grad de autenticitate. La finele investigațiilor în grupa martor și în grupa I-experiment analiza cantitativă relevă o sporire în grupa martor cu $13,3$ (mg/dl) și cu $4,0$ (mg/dl) în grupa I-experiment, pe când în grupa a II-a-experiment diminuează cu $30,8$ (mg/dl). Astfel, la cea de-a 29-a zi după naștere concentrația Ig A practic se egalează.

Tabelul 1

Nr. crt.	Zillele de investigație	Grupele									Autenticitatea comparativă	
		Martor			I-experiment			II-experiment				
		1			2			3				
		Indicii statistici										
M±m	td	P	M±m	Td	P	M±m	td	P	td	P		
1	A 3-a zi după naștere	23,3±5,2	2,5	*	30,2±4,2	0,8	>0,05	69,6±13,8	2,3	<0,05	td ₁₋₂ =1,0	P ₁₋₂ >0,05
2	A 29-a zi după naștere	36,6±1,3			34,2±2,6			38,8±1,6			td ₁₋₂ =1,2	P ₁₋₂ >0,05
											td ₁₋₃ =1,4	P ₁₋₃ >0,05
											td ₂₋₃ =1,2	P ₂₋₃ >0,05

Diagrama 1



2. Dinamica concentrației imunoglobulinei M (mg/dl)

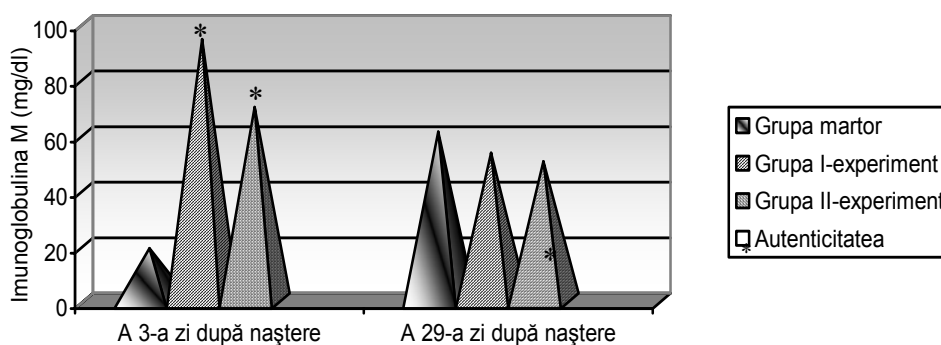
Analiza cantitativă a conținutului de imunoglobulină M la purceii aflați la a 3-a zi după naștere relevă un nivel de $19,0\pm 3,7$ (mg/dl). La cea de-a 29-a zi concentrația ei în medie pe grupă se cifrează la $61,0\pm 9,3$ (mg/dl), ceea ce constituie o sporire cu $49,0$ (mg/dl), ($td=4,3$; $P<0,001$). În grupa I-experiment inițial nivelul imunoglobulinei M constituie o cantitate medie pe grupă – de $94,2\pm 18,2$ (mg/dl). La finele investigațiilor indicele dat se micșorează până la $53,4\pm 4,7$ (mg/dl), ($td=2,2$; $P<0,05$). Vectorul evaluării schimbărilor indicelui la animalele din grupa II-experiment este îndreptat spre aceeași direcție – de diminuare cantitativă. Astfel, conținutul mediu pe grupă la purceii din grupa II-experiment scade cu $19,2$ (mg/dl), ($M=50,2\pm 6,2$ (mg/dl)), ($td=1,2$); schimbările nu sunt autentice ($P>0,05$).

O diferență esențială denotă investigațiile cantitative medii pe grupe în a 3-a zi de la naștere a purceilor. Bunăoară, cea mai mică concentrație a imunoglobulinei M se înregistrează în grupa martor ($M=19,0\pm 3,7$ (mg/dl)). Analiza comparativă în grupele I și II-experiment relevă o concentrație cantitativă exagerată comparativ cu grupa martor, însă la cea de-a 29-a zi după naștere a animalelor conținutul imunoglobulinei M în grupe mai mult sau mai puțin se echilibrează, cu mici divergențe, și variază în limitele de la $50,2$ (mg/dl) în grupa a II-a-experiment până la $61,0$ (mg/dl) în grupa martor. Toate aceste analize comparative la vârsta respectivă a purceilor nu poartă caracter statistic autentic ($P>0,05$).

Tabelul 2

Nr. crt.	Zillele de investigație	Grupele									Autenticitatea comparativă	
		Martor			I-experiment			II-experiment				
		1			2			3				
		Indicii statistici										
		M±m	td	P	M±m	td	P	M±m	td	P	td	P
1	A 3-a zi după naștere	19,0±3,7	4,3	*	94,2±18,2	2,2	* <0,05	69,8±14,8	1,2	>0,05	td ₁₋₂ =4,0	P ₁₋₂ <0,001
											td ₂₋₃ =1,0	P ₂₋₃ >0,05
2	A 29-a zi după naștere	61,0±9,3			53,4±4,7			50,2±6,2			td ₁₋₂ =0,7	P ₁₋₂ >0,05
											td ₁₋₃ =0,9	P ₁₋₃ >0,05
											td ₂₋₃ =0,1	P ₂₋₃ >0,05

Diagrama 2



3. Dinamica concentrației imunoglobulinei G (mg/dl)

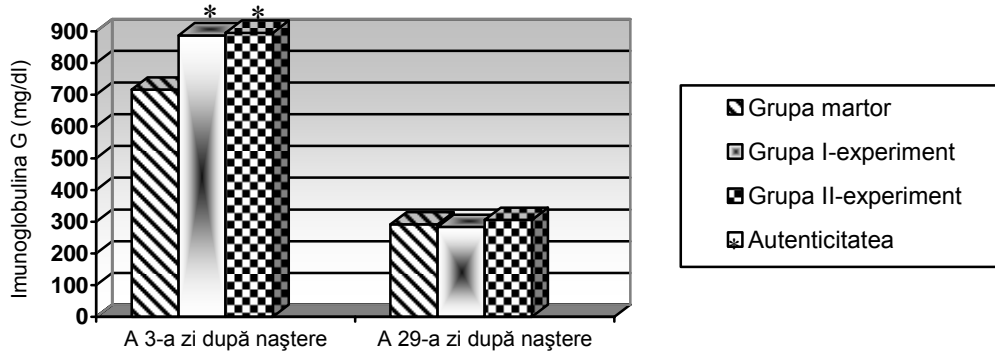
O dinamică originală se înregistrează și în conținutul Ig G. Bunăoară, în toate grupele concentrația ei pe parcursul investigațiilor diminuează vădit. Dacă la inițierea experimentului în grupa martor concentrația Ig G se cifrează la 716,9±36,4 (mg/dl), atunci la finele lui nivelul ei se micșorează cu 424,8 (mg/dl), (M=291,6±60,0 (mg/dl)), (td=6,05; P<0,001). La începutul investigațiilor concentrația ei în grupa I-experiment constituia 887,4±46,3 (mg/dl), însă pe parcurs se fixează o scădere de 603,8 (mg/dl), (M=283,6±35,6 (mg/dl)), (td=10,3; P<0,001). Schimbările din grupa a II-a-experiment poartă un caracter tot atât de pronunțat; deci, e vorba de o micșorare de 590,0 (mg/dl) – de la 895,6±6,78 (mg/dl) până la 305,6±24,4 (mg/dl). Toate aceste modificări manifestă schimbări de un foarte mare grad de autenticitate (P<0,001).

Analizând evaluarea schimbărilor comparative între grupe, e de menționat că nivelul cantitativ la începutul investigațiilor variază în limitele de la 716,4 (mg/dl) până la 895,6 (mg/dl). La același nivel comparativ conținutul Ig G se menține și la cea de a 29-a zi de la naștere, unde se înregistrează limitele de la 291,6±60,0 (mg/dl) în grupa martor până la 305,6±24,4 (mg/dl) în grupa a II-a-experiment.

Tabelul 3

Nr. crt.	Zillele de investigație	Grupele									Autenticitatea comparativă	
		Martor			I-experiment			II-experiment				
		1			2			3				
		Indicii statistici										
		M±m	td	P	M±m	td	P	M±m	td	P	td	P
1	A 3-a zi după naștere	716,4±36,4	6,05	*	887,4±46,3	10,3	* <0,001	895,6±67,8	8,1	* <0,001	td ₁₋₂ =2,9	P ₁₋₂ <0,02
											td ₂₋₃ =0,1	P ₂₋₃ >0,05
2	A 29-a zi după naștere	291,6±60,0			283,6±35,6			305,6±24,4			td ₁₋₂ =0,1	P ₁₋₂ >0,05
											td ₁₋₃ =0,2	P ₁₋₃ >0,05
											td ₂₋₃ =0,1	P ₂₋₃ >0,05

Diagrama 3



4. Dinamica concentrației de T-limfocite (%) la purcei

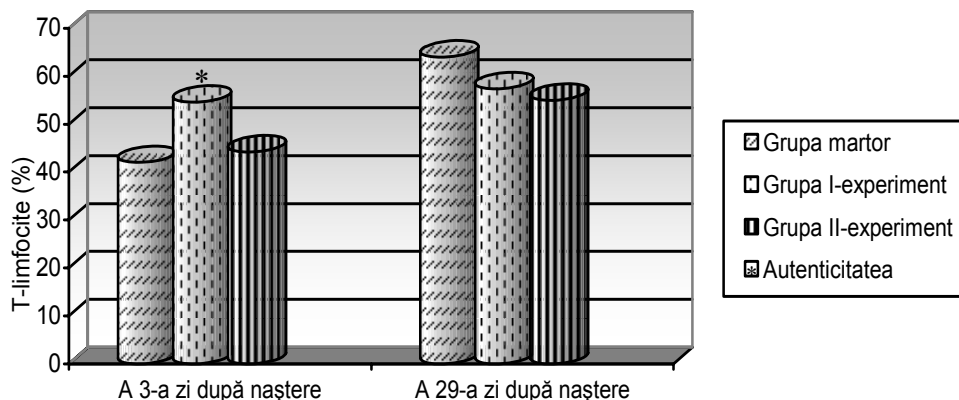
Numărul de T-limfocite la purceii din grupa martor, aflați la a 3-a zi după naștere, alcătuiește în medie 42,0±3,0(%). La cea de a 29-a zi populația lor sporește cu 22,0(%), (M=64,0±2,5(%)), (td=5,6; P<0,001). În grupa I-experiment conținutul de T-limfocite pe parcursul investigațiilor variază în limitele 54-57(%), deci practic nu se schimbă. A II-a grupă-experiment se caracterizează printr-o sporire de 10,8(%), valoarea lor medie pe grupă la începutul investigațiilor e de 44,2±3,0(%), iar la finele lor – de 55,0±5,9(%). Astfel, schimbările cantitative fiind la prima vedere impunătoare, rămân însă neautentice (P>0,05).

În ce privește analiza comparativă între grupe, e de menționat că vectorul schimbărilor cantitative este următorul: la vârsta de 3 zile cea mai înaltă concentrație se înregistrează în grupa I-experiment, pe când la nivelul grupei martor și al grupei II-experiment rămâne practic la același nivel – 42,0-44,2(%), deci (P₁₋₂ și P₂₋₃<0,05).

Tabelul 4

Nr. crt.	Zillele de investigație	Grupele									Autenticitatea comparativă	
		Martor			I-experiment			II-experiment				
		1			2			3				
		Indicii statistici										
M±m	td	P	M±m	td	P	M±m	td	P	td	P		
1	A 3-a zi după naștere	42,0±3,0	5,6	*	54,6±3,5	0,4	>0,05	44,2±3,0	1,6	>0,05	td ₁₋₂ = 2,7	P ₁₋₂ < 0,02
											td ₂₋₃ = 2,2	P ₂₋₃ < 0,05
2	A 29-a zi după naștere	64,0±2,5			57,4±6,0			55,0±5,9			td ₁₋₂ = 1,0	P ₁₋₂ > 0,05
											td ₁₋₃ = 1,4	P ₁₋₃ > 0,05
											td ₂₋₃ = 0,1	P ₂₋₃ > 0,05

Diagrama 4



5. Dinamica concentrației de B-limfocite (%) la purcei

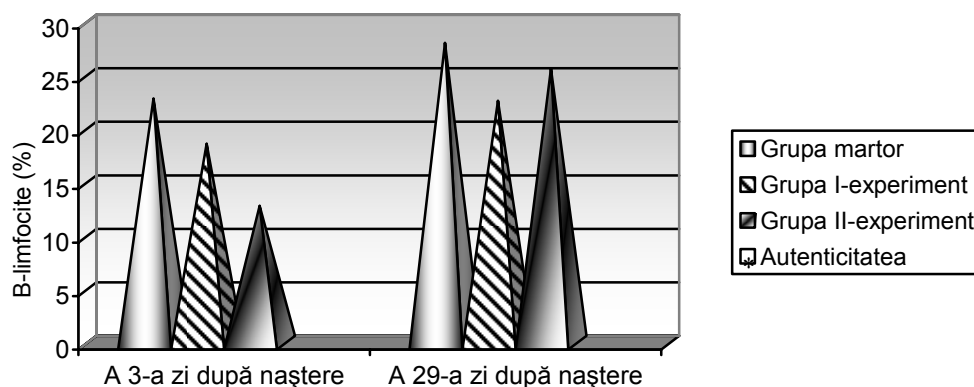
Conținutul B-limfocitelor la purceii din grupa martor, aflați la a 3-a zi după naștere, în medie pe grupă se egalează cu $22,8 \pm 3,5(\%)$. La cea de a 29-a zi concentrația lor procentuală sporește cu $5,2(\%)$ ($M=28,0 \pm 2,0(\%)$), ($P>0,05$). În grupa I-experiment populația lor de asemenea crește, dar numai cu $3,4(\%)$. Dacă la începutul investigațiilor în medie pe grupă alcătuiește $18,6 \pm 3,0(\%)$, apoi la finele lor se egalează cu $22,6 \pm 3,1(\%)$. Cele mai semnificative schimbări se înregistrează în a II-a grupă-experiment, în care concentrația lor pe parcursul perioadei de supraveghere se dublează: de la $12,8 \pm 1,7(\%)$ până la $25,6 \pm 3,7(\%)$ ($td=3,1$; $P<0,001$).

În ce privește analiza comparativă între grupe, e de menționat că la începutul investigațiilor cea mai înaltă concentrație de B-limfocite se înregistrează la purceii din grupa martor, iar cea mai mică – în grupa a II-a-experiment, diferența fiind de $10,0(\%)$. Este vorba despre studiul de inițiere a grupelor. La finele lui concentrația B-limfocitelor variază în limite ne semnificative, diferența maximă între grupe fiind de doar $6,0(\%)$.

Tabelul 5

Nr. crt.	Zillele de investigație	Grupele									Autenticitatea comparativă		
		Martor			I-experiment			II-experiment					
		1			2			3					
		Indicii statistici											
		M±m	td	P	M±m	Td	P	M±m	td	P	td	P	
1	A 3-a zi după naștere	$22,8 \pm 3,5$	1,4	$>0,05$	$18,6 \pm 3,0$	0,7	$>0,05$	$12,8 \pm 1,7$	3,1	*	$<0,001$	$td_{1-2}=0,9$	$P_{1-2}>0,05$
												$td_{2-3}=1,7$	$P_{2-3}>0,05$
2	A 29-a zi după naștere	$28,0 \pm 2,0$			$22,6 \pm 3,1$			$25,6 \pm 3,7$				$td_{1-2}=1,6$	$P_{1-2}>0,05$
												$td_{1-3}=0,57$	$P_{1-3}>0,05$
												$td_{2-3}=0,75$	$P_{2-3}>0,05$

Diagrama 5



În rezultatul efectuării investigațiilor privind influența remediei „Apifitostimulină” administrat scroafelor gestante și purceilor în primele zile ale vieții postnatale s-a constatat o sporire autentică a conținutului de imunoglobulină-A în sânge la animalele din grupa a II-a-experiment. Astfel, în grupa nominalizată nivelul imunoglobulinei-A alcătuiește $69,6 \pm 13,8$ (mg/dl), ceea ce este cu $46,3$ (mg/dl) sau cu $66,5\%$ ($P<0,01$) mai înalt comparativ cu indicele mijlociu la purceii din grupa martor ($23,2 \pm 5,2$ (mg/dl) sau cu $39,4$ (mg/dl), ($56,6\%$) mai înalt față de cel înregistrat la purceii din grupa I-experiment ($P<0,02$).

Analiza dinamicii concentrației imunoglobulinei-M denotă o sporire cantitativă a acesteia în sânge la purceii obținuți de la scroafele cărora le-a fost administrat remediu „Apifitostimulină” la cea de-a 100-a zi de gestație. Astfel, în sângele purceilor din grupa I-experiment valoarea cantitativă se cifrează la $94,2 \pm 18,2$ (mg/dl), ceea ce e cu $75,2$ sau cu $79,8\%$ mai mult ($P<0,001$) comparativ cu indicele la animalele din grupa martor ($19,8 \pm 3,7$ (mg/dl)). La purceii din grupa a II-a-experiment indicele aflat în studiu denotă o valoare cantitativă

de $69,8 \pm 14,8$ (mg/dl), deci cu $50,8$ (mg/dl) sau cu $72,8\%$ mai mult comparativ cu grupa martor. La a 29-a zi se înregistrează normalizarea indicilor la animalele din toate cele 3 grupe incluse în experiment.

Rezultatele obținute privind concentrația imunoglobulinei-G (mg/dl) relevă că la purceii din grupele I și II-experiment obținuți de la scroafele cărora le-a fost administrat remediul, la a 100-a zi de gestație se înregistrează o creștere autentică a nivelului indicelui dat în sânge. Astfel, la purceii din grupa I-experiment nivelul imunoglobulinei-G e de $887,4 \pm 46,3$ (mg/dl), deci mai înalt cu 171 (mg/dl) sau cu $19,3\%$ mai mult față de indicele la animalele din grupa martor ($716,4$ (mg/dl), ($P < 0,02$). La purceii din grupa a II-a-experiment indicele conținutului de imunoglobulină-C alcătuiește în medie pe grupă $895,6 \pm 67,8$ (mg/dl), ceea ce depășește indicele dat din grupa martor de purcei obținuți de la scroafele cărora nu le-a fost administrat remediul cu $179,2$ (mg/dl), sau cu $20,0\%$ ($P < 0,05$).

Studiul cantitativ al T-limfocitelor în sânge la animalele supuse experimentului denotă o sporire autentică a numărului de T-limfocite la purceii din grupa I-experiment ($M = 54,6 \pm 3,5\%$) sau cu $12,6\%$ mai mult comparativ cu grupa martor ($P < 0,02$). Populația B-limfocitelor în sânge la purceii supuși investigațiilor rămâne fără schimbări.

Rolul stimulator al remediului „Apifitostimulină” în experiment asupra scroafelor și descendenților lor se lămurește prin proprietățile componentelor lui de bază.

Acțiunea pozitivă a propolisului asupra activității imunologice pentru prima dată a fost descrisă în [2], pe șobolani albi. Grupei experiment i-a fost administrată vaccină împotriva bolii Auesky în complexitate cu administrarea de o singură dată a propolisului șobolanilor din grupa martor în doză analogică vaccinei. O intensificare a formării anticorpilor s-a înregistrat la șobolanii cărora le-au fost administrate vaccină și propolis; titrul anticorpului în această grupă a fost mai înalt de $6,5$ ori comparativ cu grupa martor.

Numărul celulelor plasmatică la șobolanii din grupa experiment a fost de $2,5-3$ ori mai mare față de grupa martor. De menționat că schimbările morfologice au fost evidențiate nu numai în nodurile regionale, dar și în cele limfatice. Creșterea numărului total al celulelor imunocomponente și, îndeosebi, plasmatică relevă că în procesul imunogenezei s-a inclus tot organismul animalului. Activitatea stimuloare a propolisului a apărut, potrivit opiniei unor autori [3], după o singură administrare a propolisului, nedepinzând de termene și locurile de administrare. Investigațiile efectuate de autor pe porcine a permis a concluziona că propolisul stimulează sinteza de anticorpi, sporește reacția plasmocitară în nodurile limfatice.

Efectuând cercetări consacrate influenței propolisului asupra reactivității imune a organismului cobailor cu ajutorul microscopului, s-a depistat că particulele din emulsia preparatului sunt absorbite de celulele epiteliale ale capilarelor și apar sub formă de granule anturate inelar. După seria etapelor, ele se împart în granule mai mici și în metabolismul lor se implică macrofagii. Granulele intraplasmatică ale propolisului apar sub formă de vacuole enzimatică ale macrofagilor.

Concluzii

1. Administrarea remediului „Apifitostimulină” scroafelor gestante (la a 100-a zi de gestație) contribuie la sporirea Ig A la descendenți cu $46,3$ (mg/dl), ($P < 0,01$); a Ig M cu $50,8$ în grupa a II-a-experiment și cu $75,2$ (mg/dl) în grupa I ($P < 0,001$); Ig G sporește cu 171 (mg/dl) în grupa I și cu $179,2$ (mg/dl) în grupa a II-a, ($P < 0,05$).

2. Asupra imunității celulare remediul dat sporește conținutul de T-limfocitele cu $12,6\%$ ($P < 0,02$), iar de B-limfocite dublu: $12,6\%$, ($P < 0,001$).

Referințe:

1. Macari V. Aspecte fiziologico-metabolice ale acțiunii preparatului BioR de origine algală asupra organismului porcine: Autoreferat al tezei de doctor habilitat în științe biologice. - Chișinău, 2003.
2. Кивалкина В.П., Валькин В.А. Изучение адьювантных свойств прополиса // Ученые Записки Казанского Ветеринарного Института, 1969, с.102.
3. Кивалкина В.П., Белозерова Г.А., Камалов Г.Х. Стимуляция прополисом иммуногенеза при имунизации животных против болезни Ауески. - Бухарест: Азимондия, 1988, с.116-120.

Литература:

1. Brevet de invenție 3952 C2, MD, A 61 K 35/64. Remediul imunostimulator și metoda de imunostimulare la porcine / Usatenco Victor, Țurcanu Ștefan, Natalia Donica, Tatiana Iachimova, MD. Data depozit: 2009. 03. 04, BOPI nr.8/2009.

2. Barr R.D. „Helper” and „Supressor” T-lymphocytes regulating blood cels formation in man // Biomed. Pharm., 1983, vol.37, no.3.
3. Țurcanu Ș.P. Particularitățile de formare a statutului fiziologic la purcei în perioada postnatală timpurie. Teză de doctor habilitat în biologie. - Chișinău, 1996.
4. Карпуть И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка. - Минск: „Урожай”, 1993.
5. Карпуть И.М. Иммунная реактивность свиней. - Минск: „Урожай”, 1981.
6. Красочко П.А., Машеро В.А. Иммуностимуляторы и современные способы коррекции иммунного ответа // Эпизоотология, Иммунобиология, Фармакология, Санитария, 2004, №1, с.32-36.
7. Доника Н., Цуркану Шт.П., Усатенко В. Влияние «Апифитостимулина» на резистентность организма супоросных свиноматок // Научные труды П. - Москва-Кишинев, 2008, с.292.
8. Талаев В.Ю., Зайченко И.Е. и соавт. Содержание центральных и эффекторных клеток памяти и функциональные свойства Т-лимфоцитов новорожденных и взрослых при разных способах активации „in vitro” // Иммунология, 2005, том 26, №5, с.267-274.

Prezentat la 24.12.2010