

УДК 619:615.37

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>  
 Зуйкевич Т.А., кандидат сельскохозяйственных наук<sup>1</sup>  
 Красочко П.А., доктор ветеринарных и биологических наук, профессор<sup>2</sup>  
 Морозов А.М., младший научный сотрудник<sup>1</sup>  
 Толяронок Г.Е., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>  
 Ястребов А.С., доктор ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск

<sup>2</sup>УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

## КОМПЛЕКСНЫЙ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ДВУСПИРАЛЬНОЙ РНК (ДСРНК) И ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ ТЕЛЯТ

### Резюме

Применение комплексного иммуностимулирующего препарата «Нуклеозан» при пневмоэнтеритах телят позволяет снизить длительность лечения на 4,3 дня, уменьшить количество повторно заболевших телят на 22,8 %, а также повысить эффективность вакцинаций. Установлено, что компонент препарата поливинилпирролидон совместно с дсРНК обладает выраженным пролонгированным действием – продлевает выработку интерферона до 72 часов.

### Summary

The use of the complex immunostimulating drug «Nucleosan» in calves with pneumoenteritis can reduce the duration of treatment by 4,3 days, reduce the number of calves re-diseased by 22,8 %, and also increase the effectiveness of vaccinations. It was found that the component of the polyvinylpyrrolidone preparation together with dsRNA has a pronounced prolonged effect – it prolongs the production of interferon up to 72 hours.

Поступила в редакцию 24.10.2019 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Заболевания органов дыхания и пищеварения сельскохозяйственных животных (пневмоэнтериты) остаются актуальной проблемой в хозяйствах Республики Беларусь и наносят существенный экономический ущерб. Возбудителями их являются вирусы и бактерии. Чаще всего в хозяйствах регистрируются ассоциированные пневмоэнтериты молодняка сельскохозяйственных животных. Стресс-факторами, способствующими их возникновению, являются различные нарушения условий и технологии содержания и кормления животных, использование неполноценных кормов, нарушения требований, предъявляемых к микроклимату в помещениях для содержания молодняка сельскохозяйственных животных.

Для лечения заболеваний органов ды-

хания и пищеварения у молодняка домашних животных в хозяйствах широко применяются антибиотики, которые дают определенный эффект. Однако при бессистемном их применении появляются микроорганизмы, устойчивые к антибиотикам. В связи с этим требуется поиск новых препаратов, позволяющих решать проблему пневмоэнтеритов.

В последнее время все чаще применяются препараты интерферона и индукторов интерферона. Одним из таких препаратов является двуспиральная РНК (дсРНК), обладающая антивирусным и иммуностимулирующим действием [2, 3, 4].

Нами была поставлена цель разработать технологию изготовления комплексного иммуностимулирующего препарата на основе индуктора интерферона и липополисахаридов (ЛПС) бактерий для терапии и

профилактики ассоциированных пневмоэнтеритов молодняка сельскохозяйственных животных и повышения эффективности вакцинаций.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» в 2015–2018 гг. проводились исследования по разработке комплексного иммуностимулирующего препарата на основе дсРНК и липополисахаридов бактерий. Двуспиральную РНК получали из хлебопекарных дрожжей по методике, предложенной Лебедевым Л.Р., Аликиным Ю.С. с соавторами в 2014 г. [1]. Методика получения препарата включала несколько стадий: разрушение клеточных стенок дрожжей додецилсульфатом натрия и хлороформом, экстракция дсРНК, концентрирование в растворе полиэтиленгликоля, фракционирование в растворах хлористого лития и осаждение этанолом.

Наличие дсРНК в образцах препарата определяли методом горизонтального электрофореза в агаровом геле.

Липополисахариды получали методом щелочного гидролиза *Bac. licheniformis* 1%-ным раствором гидроксида натрия. Бактериальную массу кипятили при 100 °С в течение 50–60 мин.

После остывания гидролизат бактерий центрифугировали при 5300 об/мин в течение 10 мин, осадок удаляли, надосадочную жидкость пропускали через фильтр с размерами пор 450 мкм, довели рН до 4,5–5,0 10%-ным раствором соляной кислоты. О концентрации ЛПС судили по показателю количества сухого вещества в препарате. Концентрацию ЛПС довели с помощью стерильного физиологического раствора до показателя 500 мкг/см<sup>3</sup>.

Интерферон-индуцирующую активность препарата «Нуклеозан» изучали в опыте на 30 белых мышях живой массой 18,0–20,0 г, которых разделили на 5 групп (4 опытных и 1 контрольная) по 6 мышей каждой. Препарат вводили однократно внутривентриально в дозе 0,5 см<sup>3</sup>. Животным 1-й группы вводили дсРНК, 2-й –

дсРНК+ПВП, 3-й группы – дсРНК+ПВП+ЛПС, 4-й группы – липополисахариды *Bac. licheniformis*. Через 24, 48 и 72 часа после введения препарата у мышей брали пробы крови, получали из нее плазму и определяли уровень (титр) интерферона. Использовали культуру клеток СПЭВ и вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС). Уровень интерферона в плазме крови мышей определяли по наличию или отсутствию цитопатогенного действия вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней с учетом того, что интерферон подавляет вирус ТГС.

Изготовление препарата «Нуклеозан» проводили путем смешивания 100,0 см<sup>3</sup> дсРНК с содержанием 2 мг/мл, 100,0 см<sup>3</sup> препарата бактериальных липополисахаридов в концентрации 500 мкг/см<sup>3</sup> и 7,0 см<sup>3</sup> 15%-ного поливинилпирролидона (ПВП). Компоненты препарата смешивали, фасовали во флаконы.

Препарат «Нуклеозан» при введении животным индуцирует образование интерферона, который проявляет противовирусную активность. Механизм действия препарата заключается в том, что интерферон не проникает в клетку, но, контактируя с ней через рецепторы, подавляет репродукцию вируса в клетке. Липополисахариды бактерий проявляют иммуностимулирующую активность, компонент препарата поливинилпирролидон обладает пролонгирующим действием, продлевая срок действия интерферона до 72 часов.

Терапевтическую эффективность препарата «Нуклеозан» изучили на телятах в одном из хозяйств Минской области, неблагополучном по заболеваниям органов дыхания и пищеварения. Телятам в количестве 20 голов вводили внутримышечно трехкратно с интервалом в 2 дня препарат в дозе по 20,0 см<sup>3</sup>. Телят контрольной группы (18 голов) лечили по схеме, принятой в хозяйстве.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследования интерферон-индуцирующей активности препарата «Нуклеозан» приведены в таблице 1.

Таблица 1. – Титры интерферона в плазме крови мышей, обработанных препаратом «Нуклеозан»

№ группы	Препарат	Титры интерферона через		
		24 часа	48 часов	72 часа
1	дсРНК	1:16,6	1:5,4	0
2	дсРНК+ПВП	1:66	1:22,4	1:3,5
3	дсРНК+ПВП+ЛПС	1:56,2	1:35,6	1:4,2
4	ЛПС	0	0	0
5	Контроль (физраствор)	0	0	0

Данные таблицы 1 свидетельствуют о том, что препарат «Нуклеозан» обладает антивирусным действием (по отношению к вирусу ТГС). Через 48 часов после введения монопрепарата дсРНК титр интерферона составлял 1:5,4, через 48 часов после введения препарата «Нуклеозан» – 1:35,6, через 72 часа – 1:4,2, значит, действие препарата продлевалось до 72 часов.

Результаты по изучению терапевтической эффективности разработанного препарата представлены в таблице 2. Дан-

Таблица 2. – Эффективность применения комплексного иммуностимулирующего препарата «Нуклеозан»

Показатели эффективности препарата	Ед. измерения	Группы животных	
		опытная	контрольная
Количество телят в группе	голов	20	18
Выздоровело	голов/%	18/90	11/61,1
Длительность лечения	дней	2,4	6,7
Повторно заболело	голов/%	1/5	5/27,8
Пало и вынужденно убито	голов/%	0/0	0/0
Среднесуточный привес живой массы телят	г	712	573

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные по увеличению интерферон-индуцирующей активности комплексного иммуностимулирующего препарата на основе дсРНК «Нуклеозан» свидетельствуют о том, что компонент препарата ПВП совместно с дсРНК обладает выраженным

ные таблицы свидетельствуют о том, что комплексный иммуностимулирующий препарат на основе дсРНК, липополисахаридов бактерий и пролонгатора поливинилпирролидона «Нуклеозан» обладает терапевтической эффективностью при пневмоэнтеритах телят. Его применение позволяет снизить длительность лечения больных животных на 4,3 дня, уменьшить количество повторно заболевших телят на 22,8 % и повысить среднесуточный привес живой массы на 139 г.

продолженным действием: продлевает выработку интерферона до 72 часов (срок наблюдения).

Установлено, что при введении разработанного препарата телятам терапевтическая эффективность его применения составляет 90 %, что на 28,9 % выше в сравнении с контрольной группой.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Выделение и очистка двуструнной РНК из киллерного штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Л.Р. Лебедев [и др.] // *Технология производства препаратов. Биофармацевтический журнал.* – 2014. – Т. 6. – № 6. – С. 37–43.
2. Бояринцев, Л.Е. Разработка и применение препаратов интерферона и биологически активных добавок в ветеринарии: дисс. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.01, 16.00.03 / Л.Е. Бояринцев. – Воронеж, 2003. – 341 л.
3. Сравнительное изучение специфических препаратов на основе дсРНК / Ю.С. Аликин [и др.] // *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Овчинникова Ю.А.* – 2006. – № 3. – С. 21–28.
4. Лукьянова, И.А. Применение вестина и провеста для профилактики вирусных респираторных инфекций телят / И.А. Лукьянова, В.И. Плешакова // *Ветеринария Кубани.* – № 4. – 2012. – С. 7–9.