

зе 20 мг/см² относятся к 0 классу, т.е. «отсутствие раздражающего действия». Настой полыни горькой и артемизитан оказывают слабораздражающее действие на слизистую оболочку глаза.

Полынь горькая – классическое горько-пряное желудочное средство, возбуждающее аппетит, усиливающее деятельность пищеварительных органов. Фармакологическое действие принадлежит гликозиду абсинтину, горькому на вкус, который усиливает стимулирующую функцию желез пищеварительного тракта, секрецию желчи, панкреатического и желудочного сока. Противопоказанием для применения является острый гастрит [5].

По результатам исследований были предложены для цыплят-бройлеров препаративные формы: настойка полыни горькой и настой полыни горькой для стимуляции пищеварительных процессов с целью профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта заразной и незаразной этиологии. В поисках оптимальной дозы этих лекарственных форм для повышения активности пищеварительных ферментов и среднесуточных приростов живой массы цыплят-бройлеров было установлено, что настойка полыни горькой оказала наилучший эффект в дозе 0,05 мл на голову в течение 7 дней, а настой полыни горькой - 0,4 мл на голову в течение 7 дней. При этом повышалась активность протеолитических ферментов на 3,5% (P<0,05) – 9,3% (P<0,05), липолитических – на 22,7% (P<0,01) – 35,8% (P<0,01), амилазных – на 6,5% (P<0,05) – 33,1% (P<0,01), щелочной фосфатазы – на 11,4% (P<0,05) – 37,4% (P<0,01); а среднесуточные приросты живой массы – на 19,3 (P<0,05) и 13,9%.

В проводимых экспериментах настоек полыни горькой назначали при аскариозе, эзофагостомозе и трихоцефалезе свиней, стронгилоидозе, стронгилятозах желудочно-кишечного тракта овец в дозе 3,5-4 мл/кг живой массы 2 раза в день в течение трех дней подряд. В результате проведенных исследований установили, что настой полыни горькой эффективен при аскариозе, эзофагостомозе и трихоцефалезе свиней (экстенсивность – 66-80%), стронгилоидозе и стронгилятозах желудочно-кишечного тракта овец (экстенсивность – 50-66%).

Жидкий экстракт полыни горькой для овец эффективен при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта и стронгилоидозе в дозе 5 мл, при аскариозе, эзофагостомозе и трихоцефалезе свиней - 2,5 мл на животное двукратно с интервалом 24 часа. При этом достигается высокий лечебный эффект при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта и стронгилоидозе овец (экстенсивность – 100%), а также при аскариозе, эзофагостомозе и трихоцефалезе свиней (экстенсивность – 100%).

Заключение. В природе нет лекарственных растений, которые не годились бы в качестве лекарства. Ветеринарный врач, правильно подобрав растения, определив спектр необходимых химических соединений, содержащихся в них, подходящие лекарственные формы, может использовать эффективные, легкодоступные фитопрепараты в своей практической деятельности.

Литература. 1. Барнаулов, О. Д. Введение в фитотерапию / О. Д. Барнаулов. – Санкт-Петербург : Лань, 1999. – 160 с. 2. Вишневец, Ж. В. Токсико-фармакологическая характеристика полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.) и ее эффективность при основных нематодозах свиней и овец : автореф. дис. ... канд. ветеринарных наук : 03.00.16, 16.00.04 / Ж. В. Вишневец. – Минск, 2004. – 21 с. 3. Лекарственные растения в ветеринарии / А. И. Ятусевич [и др.] // Белорусское сельское хозяйство. – 2008. – № 11. – С. 43–47. 4. Липницкий, С. С. Фитотерапия в ветеринарной медицине / С. С. Липницкий. – Минск : Беларусь, 2006. – 286 с. 5. Противопаразитарные свойства полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.) : монография / А. И. Ятусевич [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2016. – 168 с. 6. Теория и практика фитотерапии животных / А. И. Ятусевич [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2004. – № 1. – С. 80–90.

Статья передана в печать 08.02.2018 г.

УДК 619:616.98:579.842.11:614.31:637.5

ВЛИЯНИЕ АЛЬФА– И ГАММА–ИНТЕРФЕРОНОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ СВИНЫХ НА ИММУНОГЕННОСТЬ КОЛИБАКТЕРИОЗНЫХ АНТИГЕНОВ

*Зайцев В.В., **Билецкий М.О., ***Билецкий О.Р., ****Зайцева А.В.

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск, Республика Беларусь

**ИООО «Продэксим», г. Витебск, Республика Беларусь

***УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

В ходе проведенной экспериментальной работы изучено комплексное влияние альфа- и гамма-интерферонов рекомбинантных свиных и колибактериозных антигенов на иммунную систему организма поросят. Было установлено, что одновременное введение поросятам альфа- и гамма-интерферонов рекомбинантных свиных и колибактериозного антигена способствует повышению иммунного ответа как после однократной, так и двукратной иммунизации. **Ключевые слова:** антиген, *E. coli*, интерфероны, колибактериоз, сыворотка крови, реакция агглютинации.

THE EFFECT OF PROCINE RECOMBINANT ALFA – AND GAMMA – INTERFERONS ON THE IMMUNOGENICITY OF ESCHERICHIA COLI ANTIGENS

*Zaitsev V.V., **Biletsky M.O., ***Biletsky O.R., ***Zaitseva A.V.

*Institute of Experimental Veterinary named after Vysheslesky, Minsk, Republic of Belarus

**«ProdEksim» Comp., Vitebsk, Republic of Belarus

***Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The experimental work have determined the combined effect of porcine recombinant alfa and gamma interferon and escherichia coli antigens on the immune system of pigs. It has been established that the simultaneous administration of porcine recombinant alfa- and gamma interferon with escherichia coli agent contributes to enhance the immune response after one-dozе and two-dozе immunization. **Keywords:** antigen, E. coli, interferons, colibacteriosis, blood serum, agglutinations.*

Введение. Свиноводство является скороспелой отраслью животноводства, позволяющей в короткое время получать значительное количество мясной продукции при условии эпизоотического благополучия на ферме.

В последние годы одной из повсеместных причин низкой рентабельности свиноводческих предприятий явились огромные убытки от желудочно-кишечных болезней поросят-сосунов, сопровождающихся гибелью 20-50% и более рождаемого молодняка и значительными расходами средств на проведение лечебных мероприятий [3].

По своему происхождению в Республике Беларусь регистрируются разнообразные болезни. Но наиболее распространенными и наносящими экономический ущерб являются инфекционные болезни [9].

Успешная борьба с инфекционными болезнями невозможна без объективной оценки эпизоотической ситуации и определения этиологического значения выделяющихся микроорганизмов [8].

Наиболее широкое распространения имеют болезни, вызываемые условно-патогенной микрофлорой, которые почти повсеместно диагностируют в хозяйствах республики, при этом, чаще всего причиной их возникновения являются эшерихии, сальмонеллы, пастереллы, псевдомонады, бордетеллы, протей, стафилококки, стрептококки и многие другие микроорганизмы [4, 5].

Колибактериоз - одна из серьезнейших проблем в свиноводстве, которая усугубляется этиологическими факторами, выражающимися разнообразием серовариантов эшерихий, вызывающих различные формы проявления данного заболевания [5, 8].

Из средств специфической профилактики для активной иммунизации против колибактериоза животных используют вакцины.

Для коррекции и усиления иммунного ответа применяют адъюванты.

Усиленное действие антигена в организме при введении его с адъювантом объясняют несколькими причинами:

- 1) замедленной резорбцией антигена из образовавшегося на месте введения «депо», что способствует суммации антигенных раздражений;
- 2) воспалительной реакции организма в ответ на введения адъюванта;
- 3) образование комплекса антигена с адъювантом по типу химических связей, в результате чего повышается иммуногенность антигена;
- 4) стимуляцией адъювантом фагоцитарной активности системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ);
- 5) общим усилением синтеза белка в организме;
- 6) замедление гидролиза антигена тканевыми ферментами;
- 7) стрессорным действием адъюванта на организм.

Перечисленные причины объединяются в две основные группы.

Первая группа гипотез рассматривает стимуляцию иммуногенеза под влиянием адъювантов как результат действия последних на организм.

Вторая же группа, напротив, основную роль при этом приписывают изменению антигена под действием адъюванта, в результате чего он приобретает свойство повышенной иммуногенности.

Большинство исследователей считают, что адъюванты оказывают комбинированное действие как на антиген, изменяя его физико-химическое состояние и усиливая иммуногенность, так и непосредственно на организм, вызывая ряд неспецифических реакций, которые или сами выполняют защитные функции (воспаления, плазмоцитарная реакция), или на основе которых разворачивается процесс иммуногенеза, но уже под влиянием присутствия в организме специфического чужеродного антигена (усиление синтеза белка) [1].

К типу масляных адъювантов относится классический адъювант Фрейнда. Механизм действия масляного адъюванта принципиально не отличается от механизма действия минеральных сорбентов. При смешивании необходимого антигена с масляным адъювантом создают водно-масляную эмульсию.

Синтетические полиэлектролиты, такие как поли-4-винилпиридин, поли-2-метил-5-винилпиридин и полиакриловая кислота, являются мощными иммуностимуляторами.

Показано, что введение этих соединений с белковыми или полисахаридными антигенами приводит к увеличению выхода антителообразующих клеток [2, 6, 7].

Цель настоящей работы - изучить влияние альфа- и гамма-интерферонов рекомбинантных свиных на иммуногенность колибактериозных антигенов.

Материалы и методы исследований. Работа проводилась в 2013-2014 г. Адгезивные антигены E. coli готовили по разработанному ранее методу. Для приготовления адгезивных антигенов использовали баксуспензии штаммов E. coli O115:K88, E. coli O141:K99, E. coli O111:F41 и

E. coli O9:K103:987P с концентрацией 100 млрд/см³ м.к.

Далее полиантиген готовили путем смешивания адгезивных моноантигенов K88, K99, F41 и 987P в соотношении 1:1:1:1.

Для приготовления соматического колибактериозного антигена выращивали культуры *Escherichia coli* O9, O8, O78, O20, O139, O141, O26, O15, O101 и O115. Выращенные в ферменторе культуры эшерихий разводили до содержания 15 млрд/см³. Культуры эшерихий всех серотипов смешивали и инактивировали при температуре 37-40 °С в течение 25 суток в присутствии 0,3% формалина. Далее соматический и адгезивный антигены смешивали в соотношении 4:1.

Для приготовления образца 1 - поливалентный антиген смешивали с гидроокисью алюминия 6% в соотношении 4:1. Для приготовления образца 2 - поливалентный антиген соединили в соотношении 9:1 со смесью альфа- и гамма-интерферонов рекомбинантных свиных с антивирусной активностью 1×10^5 ТЦД_{50/см³}.

Для проведения испытания было сформировано 6 групп поросят – отъемышей (по 5 голов в группе).

1-я группа поросят была контрольной – этим поросятам колибактериозный антиген не назначали. Поросятам 2-й группы в дозе 1,0 см³/гол назначали смесь альфа- и гамма-интерферонов рекомбинантных свиных.

Животным 3-й группы внутримышечно вводили антиген №1 двукратно с интервалом 14 суток в дозах 1,5 и 2,0 см³. Поросятам 4 группы назначали антиген №2 двукратно с интервалом 14 суток в дозах 1,5 и 2,0 см³. Поросятам 5 группы однократно в дозе 2,0 см³ внутримышечно вводили антиген №1. Животным 6 группы однократно в дозе 2,0 см³ внутримышечно вводили антиген №2.

У поросят групп 3 и 4 через 7, 14 и 21 суток после повторного введения антигенов производили забор крови для контроля специфических титров антител в РА.

У животных 5 и 6 групп через 7, 14 и 21 суток после однократного введения антигенов производили забор крови для исследования титра антител в РА.

Также у животных 3, 4, 5 и 6 групп через 7, 14 и 21 суток после второй иммунизации проводили забор крови для оценки превентивной активности сыворотки крови поросят. У поросят 5 и 6 групп забор крови для оценки превентивной активности производили через 7, 14 и 21 суток после однократной иммунизации.

Для контроля превентивной активности сывороток крови поросят было сформировано 5 групп белых мышей (по 10 голов в каждой). Мышей 1-й группы (контрольной) инфицировали внутрибрюшинно культурой *E. coli* O9 в дозе 3 ЛД₅₀. Мышам опытных групп 2, 3, 4 и 5 за сутки до заражения культурой *E. coli* O9 в дозе 3 ЛД₅₀ предварительно внутрибрюшинно назначали в дозе 0,5 см³ сыворотки, полученной соответственно от поросят групп 3, 4, 5 и 6.

Учитывали продолжительность жизни мышей в каждой группе в течение 7 суток после инфицирования. Для определения иммуногенности колибактериозных антигенов, приготовленных разными методами, сыворотки крови, полученные от поросят разных групп, исследовали в РА с 1 млрд взвесью штамма *E. coli* O9, выращенного в течение 24 часов на МПА и ресуспендированных в растворе натрия хлорида. Каждую пробу сыворотки разводили раствором натрия хлорида по схеме, приведенной в таблице 1.

Пробирки, содержащие смеси сывороток с антигеном, помещали в термостат и выдерживали в течение 16-18 часов при температуре (36-38 °С). Реакцию учитывали в крестах.

Результаты исследований. Иммуностимуляторы, влияющие на процесс секреции иммунокомпетентных клеток активирующих факторов, дают возможность изменить силу первичного иммунного ответа и увеличить силу вторичного.

Действие иммуностимуляторов осуществляется несколькими путями в зависимости от стадии, на которую это действие направлено. Так, например, минеральные адсорбенты и масляные эмульсии способствуют лучшему поглощению антигенов макрофагами. Некоторые синтетические адъюванты воздействуют на иммунокомпетентные клетки, усиливая процессы секреции активирующих факторов.

К применению адъювантов накладываются довольно жесткие требования. Во-первых, они должны быть свободными от посторонних примесей и не вызывать побочных иммунных реакций. Во-вторых, они не должны быть онкогенными или аллергенными веществами и вызывать появление соответствующих соединений в организме. В-третьих, адъюванты не должны содержать антигены, сходные с антигенами хозяина. Несоблюдение этих требований может привести к сильным аутоиммунным реакциям. В-четвертых, они не должны вызывать неспецифических и неконтролируемых трансформаций лимфоцитов и после выполнения своих функций должны легко метаболизироваться.

Основные взгляды на механизм действия адъювантов рассмотрены в монографии А.А. Воробьева и Н.Н. Васильева [1].

Интерфероны свиные рекомбинантные проявляют антивирусную и иммуностимулирующую активность у свиней. Эффект их определяется суммарным действием экзогенных белков непосредственно на пораженные вирусом клетки, быстрой индукцией системы эндогенных цитокинов, клеточного и гуморального иммунитета.

Смесь альфа- и гамма-интерферонов свиных рекомбинантных выступает в качестве индуктора бактерицидной (БАСК) и лизоцимной (ЛАСК) активностей сыворотки крови, оказывает противовоспалительное действие, повышает резистентность организма животных к воздействию ДНК- и РНК-содержащих вирусов и патогенных микроорганизмов. Усиливает напряженность иммунитета, проявляет антистрессовый эффект и снимает поствакцинальный синдром при вакцинациях.

Таблица 1 - Схема разведения проб сыворотки крови раствором натрия хлорида

№ пробирки	Объем, см		Разведения сыворотки	
	Раствор натрия хлорида	Сыворотки	До смешивания с антигеном	После смешивания с антигеном
1	1,5	1,0	1:2,5	1:5
2	4,0	1,0	1:5	1:10
3	1,0	1,0 из предыдущего разведения	1:10	1:20
4	1,0	1,0 из предыдущего разведения	1:20	1:40
5	1,0	1,0 из предыдущего разведения	1:40	1:80
6	1,0	1,0 из предыдущего разведения	1:80	1:160
7	1,0	1,0 из предыдущего разведения	1:160	1:320

Таблица 2 - Результаты оценки иммунного ответа у свиней против колибakterиогенного антигена с разными адъювантами

Группы	№ поросенка	Титр антител в сыворотке крови свиней		
		7 сутки	14 сутки	21 сутки
1 (контроль)	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	1:2	1:4
	4	1:4	1:4	0
	5	1:2	1:4	1:2
2 (интерферон)	6	0	0	0
	7	1:4	1:4	1:4
	8	1:4	1:2	1:2
	9	1:4	1:8	1:4
3 (антиген № 1)	10	1:2	1:2	0
	11	1:80 +	1:80 3+	1:160 +
	12	1:80 ++	1:80 4+	1:160 2+
	13	1:80 +	1:80 2+	1:80 4+
	14	1:80 +	1:80 3+	1:160 2+
4 (антиген № 2)	15	1:80 +	1:80 2+	1:160 +
	16	1:80 2+	1:160 +	1:160 4+
	17	1:80 3+	1:160 2+	1:160 4+
	18	1:80 2+	1:160 2 +	1:160 3+
	19	1:80 2+	1:160 2	1:160 4+
5 (антиген № 1)	20	1:80 2+	1:160 +	1:160 3+
	21	1:80 +	1:80 3+	1:80 4+
	22	1:80 +	1:80 4+	1:80 4+
	23	1:80 2+	1:80 3+	1:80 4+
	24	1:80 2+	1:80 4+	1:80 4+
6 (антиген № 2)	25	1:80 2 +	1:80 4+	1:80 4+
	26	1:80 2+	1:80 4+	1:160 3+
	27	1:80 2+	1:80 4+	1:160 3+
	28	1:80 +	1:80 3+	1:160 4+
	29	1:80 +	1:80 4+	1:160 3+
	30	1:80 +	1:80 3+	1:160 4+

Из данных, находящихся в таблице 2, видно, что антиген колибakterиоза, сорбированный на гидроокиси алюминия через 21 сутки после однократного введения обеспечивает титр 1:80 на четыре креста, а через 21 сутки после двукратного введения - 1:160 на один-четыре креста.

Из этой таблицы также следует, что однократное введение антигена в комбинации с интерферонами обеспечивает синтез специфических антител через 21 сутки в титре 1:160 на три-четыре креста.

При двукратном введении антигена №2 уже через 14 суток образуются специфические антитела в титре 1:160 на один-два креста.

Из таблицы №3 следует, что высокая превентивная активность - у сывороток, полученных от свиней, иммунизированных двукратно антигеном №1. Так, в 3-й группе мышей обработанных сыворотками свиней, полученных через 7, 14 и 21 суток после второй иммунизации, выжило соответственно животных со средней продолжительностью жизни 3 (120,0), 6 (134,4) и 8 (160,0).

Из таблицы 3 также видно, что однократная иммунизация поросят антигеном №2 обеспечивает уже через 14 суток формирование 80%, а на 21 сутки - 100% превентивной активности. Через 7 суток после повторного введения антигена №2 отмечается тенденция

снижения превентивной активности до 70%, с последующим подъемом ее до 90% через 14 суток и 100% - через 21 сутки. Очевидно, что однократное введение антигена №2 через 14 суток обеспечивает защиту поросят от колибактериоза. Из результатов, помещённых в таблицах 2 и 3 видно, что интерфероны, введенные вместе с колибактериозным антигеном, обладают адъювантным и иммуностимулирующим действием, так как повышают его иммуногенность.

Таблица 3 – Превентивная активность сыворотки крови поросят, иммунизированных колибактериозными антигенами, приготовленными с разными адъювантами

Сыворотка крови поросят, № группы	Продолжительность жизни мышей, час								
	7 суток после введения антигена			14 суток после введения антигена			21 суток после введения антигена		
	Кол-во пало (гол.)	Кол-во выжило (гол.)	Продолжительность жизни (час.)	Кол-во пало (гол.)	Кол-во выжило (гол.)	Продолжительность жизни (час.)	Кол-во пало (гол.)	Кол-во выжило (гол.)	Продолжительность жизни (час.)
Контроль									
3	7	3	3/168	4	6	6/168	2	8	8/168
			3/120			2/96			1/140
			2/96			2/72			1/116
			2/72						
Средняя продол-ть жизни мышей			120,0			134,4			160,0
4	3	7	7/168	1	9	9/168	0	10	10/168
			2/144			1/20			
			1/120						
Средняя продол-ть жизни мышей			144,0			163,2			168,0
5	8	2	2/168	6	4	4/168	5	5	5/168
			2/120			1/140			2/140
			2/96			2/116			2/116
			4/72			2/96			1/96
						1/72			
Средняя продол-ть жизни мышей			105,6			130,8			118,1
6	6	4	4/168	2	8	8/168	10	10	10/168
			2/144			2/140			
			2/120						
			2/96						
Средняя продол-ть жизни мышей			129,6			162,4			168,0

Заключение. 1. Установлено, что включение интерферонов рекомбинантных свиных в состав комплексного колибактериозного антигена повышает иммунный ответ, как после однократной, так и двукратной иммунизации. 2. Через 7 суток после повторного введения колибактериозного антигена с интерферонами отмечается снижение их адъювантного эффекта вследствие гиперактивации иммунной системы животных из-за содержания высокой дозы антигена. 3. Для конструирования с высокой биологической защитой вакцины против колибактериоза животных целесообразно использовать альфа- и гамма-интерфероны рекомбинантные свиные.

Литература. 1. Воробьев, А. А., Васильев, Н. Н. Адъюванты. – М.: Медицина, 1969. - 205 с. 2. Кабанов В. А., Петров Р. В., Хаитов Р. М. Конъюгаты белков и линейных водорастворимых полимеров как искусственные антигены // Инженерная энзимология. – Киев, 1983. – С. 15-16. 3. Каврук Л. С. Этиология желудочно-кишечных заболеваний поросят-сосунов, их профилактика и лечение / Л. С. Каврук // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2009. - №6. - С. 53-58. 4. Медведев А. П. Требования к штаммам, предназначенным для производства противозверихиозных препаратов / А. П. Медведев, А. М. Юдасин // Ученые записки УО ВГАВМ. Витебск: ВГАВМ, 2007. - Т.43, вып. 1. - С. 154-157. 5. Медведев А. П. Условно-патогенные микробы и их роль в инфекционной патологии животных / А. И. Медведев, А. А. Вербицкий, М. В. Грибанова // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2006. - №1. - С. 12-13. 6. Петров Р. В., Кабанов В. А., Хаитов Р. М. и др. Способность конъюгатов бактериального полисахарида с синтетическими полиэлектролитами давать иммунизирующий эффект // Иммунология. – 1983. - №5. – С. 40-43. 7. Петров Р. В., Жданов В. М., Кабанов В. А. и др. Использование конъюгатов вирусных белков с синтетическими полимерами в качестве вакцинирующих комплексов для защиты от гриппозной инфекции // Иммунология. – 1984. - №4. – С. 50-52. 8. Этиологическая структура инфекционных болезней поросят – отъемышей в свиноводческих комплексах / Г. Н. Спиридонов [и др.] // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: матер. Междунар. науч. – практ. конф., г. Воронеж, 23 – 25 сентября 2002 года. - Воронеж, 2002. - С. 40 – 42. 9. Эффективность нового бактериального препарата на основе бацилл при лечении кишечных инфекций у молодняка сельскохозяйственных животных и птиц / Н. Н. Андросик [и др.] // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных: науч.- практ. конф. посвященной 70- летию со дня образования Бел. НИИЭВ им. С. Н. Вышелесского г. Минск, 5 – 6 октября 2000 года. - Минск, 2000. – С. 239 – 241.

Статья передана в печать 06.02.2018 г.