

Концентрат лептоспир при небольшой дозе 0,5-2,0 см<sup>3</sup> обеспечивает адекватный иммунный ответ, характеризуется малой иммунизирующей дозой, устойчив к нагреванию.

При хранении концентрата в течение 6 месяцев в термостате при температуре 37<sup>0</sup>С иммуногенная активность его не изменяется, что свидетельствует о высокой устойчивости антигенов лептоспир в процессе хранения.

*Заключение.* На основании полученных результатов работы можно сделать следующие выводы:

1. Разработан способ концентрирования лептоспир, который может быть использован при изготовлении противолептоспирозных биопрепаратов.

2. Концентрат, приготовленный по предлагаемому способу, обеспечивает формирование активного иммунитета у лабораторных животных и высокую устойчивость лептоспир в процессе хранения.

*Литература:* 1. Вакцина против лептоспироза животных лиофилизированная / А.Н. Панин [и др.] // *Ветеринария*. – 2002. – № 1. – С. 21-24. 2. Ситьков, В.И. Совершенствование технологии промышленного изготовления вакцины для профилактики лептоспироза животных / В.И. Ситьков // *Сб. науч. трудов Ставропольской ГСХА*. – Ставрополь, 1995. – С. 33-35. 3. Ситьков, В.И. Опыт промышленного изготовления вакцины для профилактики лептоспироза животных / В.И. Ситьков // *Матер. межд. конф.* – Барнаул, 1995. – С. 91-92. 4. Ситьков, В.И. Основные биотехнологические приемы изготовления вакцин для профилактики лептоспироза / В.И. Ситьков // *Матер. Всесоюз. конф. РАН*. – Ставрополь, 1996. – С. 32-33. 5. Ситьков, В.И. Опыт приготовления сухой вакцины против лептоспироза животных / В.И. Ситьков // *Тезисы докл. науч.-произв. конф.* – Курск, 1996. – С. 197. 6. Ситьков, В.И. Научные и практические основы промышленного производства и применения вакцин / В.И. Ситьков // *Диссертация в форме научного доклада на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук*. – 1997. – С. 62. 7. Ситьков, В.И. Новая питательная среда для культивирования лептоспир / В.И. Ситьков, В.А. Бобрышев, И.К. Тутов // *Матер. межд. конф.* – Барнаул, 1996. – С. 98-99. 8. Ситьков, В.И. Концентрирование лептоспир на модульной установке МСМ-1,5 / В.И. Ситьков, В.Н. Лемешко // *Тезисы докл. 5-й Всерос. конф.* Щелково, 1996. – С. 247-249. 9. Ситьков, В.И. Опыт получения сухой вакцины против лептоспироза животных / В.И. Ситьков, В.Н. Лемешко // *Тезисы докл. 5-й Всерос. конф.* Щелково, 1996. – С. 99. 10. Ситьков, В.И. Изыскание оптимальных условий концентрирования лептоспир / В.И. Ситьков, В.Н. Лемешко // *Вестник ветеринарии*. – 1996. – № 1. – С. 73-75. 11. Ситьков, В.И. Опыт промышленного изготовления вакцины против лептоспироза / В.И. Ситьков, В.Н. Лемешко, И.К. Тутов // *Ветеринария*. – 1996. – № 1. – С. 9-10. 12. Ситьков, В.И. Теоретические, научные и практические основы приготовления вакцин для профилактики лептоспироза животных / В.И. Ситьков, И.К. Тутов // *Тезисы докл. науч.-произв. конф.* – Курск, 1996. – С. 280-281.

УДК 619 : 615.37 : 635

#### АКТУАЛЬНОСТЬ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ (Современный подход и направления)

Зайцев В.В., Зайцева А.В., Дремач Г.Э.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
Республика Беларусь

*Авторами статьи приводятся сведения о перспективности применения иммуномодуляторов на основе липополисахаридов грамотрицательных бактерий, механизме их действия на организм животных, разработке отечественных препаратов.*

*The article features the data on prospectives for application of the immunomodulants derived from lipopolysaccharides of gramnegative bacteria, affect on the organism, development of domestic.*

Современная эпизоотическая ситуация по инфекционным болезням в Республике Беларусь, странах ближнего и дальнего зарубежья требует напряжённой работы по созданию и реализации эффективных средств и способов их профилактики.

Следует констатировать, что интенсивная эксплуатация животных с целью увеличения их продуктивности, обилие различных стресс-факторов снижает резистентность животных вследствие поражения иммунной системы и механизмов неспецифической защиты.

Известно немало случаев проявления вторичных иммунодефицитов, являющихся результатом нарушений содержания и кормления, переболевания животных в раннем возрасте, бессистемного применения лечебных препаратов, обладающих иммунодепрессивным действием.

Применение антимикробных средств для лечения и профилактики болезней животных не только вызывает дисбактериоз, но и приводит к исчезновению тех штаммов бактерий, которые синтезируют витамины, и дефициту витаминов, в частности группы В.

Явления иммунодефицитов усугубляют продукты метаболизма антибиотиков, противовоспалительные препараты, анестетики. Иммунная недостаточность приводит к снижению эффективности проводимой терапии, способствует активации условнопатогенной флоры.

Увеличение персистенции патогенных микроорганизмов на фоне местного иммунодефицита способствует длительному переживанию бактерий в кишечнике. Неконтролируемый генерализованный ответ организма вызывает септический синдром, выражающийся в системном поражении тканей и органов, диссеминированному внутрисосудистому свёртыванию, дыхательной недостаточности и летальном исходе [14].

Хроническое воспаление как альтернатива генерализованному ответу развивается в иммунодефицитном организме, неспособном к осуществлению полноценного острофазового ответа. Результаты хронич-

ческого воспаления является избыточное образование кислородных радикалов, истощение антиоксидантных ресурсов тканей, снижение экспрессии детоксицирующих ферментов (глутатион-трансфераза и глутатион-редуктаза), образование оксидантных генетических дефектов и нарушение их репарации, что может способствовать малигнизации.

Поэтому встаёт потребность в стимуляции иммунных и ферментных систем, предупреждении дисбактериоза. Восстановление функциональной активности иммунной системы является неотъемлемой частью комплексной терапии различных патологических состояний [3, 4, 5, 10, 18].

Общеизвестно, что источником липополисахаридов в организме являются грамотрицательная микрофлора кишечника. Поступление небольшого количества липополисахаридов в кровоток считается необходимым для поддержания физиологического иммунитета.

В связи с этим представляется интересным использование препаратов на основе липополисахаридов грамотрицательных бактерий. Важной особенностью является их совместимость с различными лекарственными средствами и витаминами, активно влияющими на иммунную систему, катализируя и регулируя биохимические процессы.

Бактериальные иммуномодуляторы позволяют полнее реализовать защитный потенциал иммунной системы организма. Липополисахарид активирует все клетки, участвующие в иммунном ответе – макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты [14].

Макрофаги играют существенную роль в регуляции иммунного и воспалительного ответа посредством фагоцитоза, презентации антигена и секреции цитокинов. Липополисахарид активирует Т-клетки, способствует созреванию В-клеток в В-лимфоциты. Цитокиностимулирующую активность липополисахаридов грамотрицательных бактерий отмечают. Цитокины – белки способные воздействовать на все иерархические уровни – от генетического и молекулярного до организменного и поведенческого [4]. С их участием реализуются многие процессы в организме – рост, дифференцировка, апоптоз, воспаление, иммунные и аллергические реакции, цитотоксичность специализированных клеток в отношении инфекционных агентов [14].

Абсолютное число макрофагов и клетки перитонеального экссудата коррелирует с устойчивостью животных к экспериментальной инфекции при введении препаратов на основе липополисахаридов бактерий.

Липополисахариды бактерий снижают системную токсичность при введении многих препаратов. По данным морфологических исследований после введения иммуностропных веществ у животных не происходит быстрого обеднения селезёнки лимфотическими клетками, выброс их в периферическую кровь осуществляется пролонгировано и в два раза снижается их летальность.

Самым авторитетным свидетельством в пользу участия противовоспалительных цитокинов в регрессии опухолей является лечение онкологических заболеваний с применением липополисахаридов [11].

Считается, что основным звеном, ведущим непосредственно к геморрагическому некрозу опухоли после введения липополисахарида, является цитотоксическое действие ФНО – а эндотелий микрососудов.

Механизм противоопухолевого действия липополисахаридов, включает ещё одно важное звено, а именно – катастрофическое изменение метаболизма, в частности, углеводов. Поглощение глюкозы опухолью снижалась на 96% после обработки липополисахаридом, при этом в два раза увеличивалась утилизация глюкозы мышечной тканью.

Одним из основных методов борьбы с инфекционными заболеваниями является вакцинопрофилактика, в основе которой лежит создание активного иммунитета у животных.

Отсутствие высокой эффективности вакцинации в прежние годы связывали с рядом программных ошибок (нарушение при транспортировке, хранении, введения вакцины, иммунизация молодняка при сохранении материнских антител, использование низкоиммунных серий вакцин).

В настоящее время, в условиях применения высокоэффективных вакцин, среди причин отсутствия сероконверсий после иммунизации или быстрой утраты содержания протективных антител на первое место выходит способность иммунной системы вакцинируемого адекватно отвечать на иммунизацию [11, 12].

Изменения, возникающие в иммунной системе при вакцинации, могут приводить к иммунодефицитам, развитие которых зависит от свойств самой вакцины, сроков, дозы и схемы её введения, а также обусловлено общим снижением иммунологической реактивности животных.

Иммунологические исследования показали, что во время стресса, возникающего, например, при вакцинации, происходит снижение иммунного статуса организма, характеризующиеся уменьшением абсолютного количества Т-лимфоцитов в крови, снижением уровня иммуноглобулинов. Введение живых вакцин против сальмонеллёза и рожи приводит к временному иммуносугрессивному эффекту.

Развитие методов иммунопрофилактики и появление новых иммуностропных препаратов, в том числе и на основе липополисахаридов грамотрицательных бактерий позволяет проводить направленную модуляцию иммунной системы при вакцинации животных. Многочисленными исследованиями доказано, что иммуномодулятор, оказывающий избирательное действие на какой-то определённый компонент иммунной системы, например стимуляция факторов естественной резистентности, влияет и на гуморальный, и на клеточный иммунитет, то есть изменяет функциональную активность всей иммунной системы в целом [15].

Усиление продукции Т-клетками медиаторов межклеточных взаимодействий противовоспалительной направленности после применения иммуностропных препаратов на основе липополисахаридов грамотрицательных бактерий (ПулСал, Сальмопул, Колзан, Бионор В) можно расценивать как позитивную реакцию клеточных механизмов направленных на формирование более выраженного иммунного ответа на вакцинацию.

Количество циркулирующих иммунных комплексов при введении вакцины и препаратов на основе липополисахаридов снижается, что свидетельствует о снижении сенсибилизирующей активности препаратов.

Сочетание введения препаратов на основе липополисахаридов и живых вакцин способствует более гладкому клиническому течению вакцинного процесса, а также активации клеточных и гуморальных реакций,

что проявлялось более высоким и ранним специфическим антителообразованием.

Полученные нами данные соответствуют мнению ряда ведущих специалистов, полагающих, что применение иммуномодуляторов в сочетании с вакцинами может приводить к усилению иммунного ответа, формированию быстрой эндогенной защиты, устранению их иммунодепрессивного действия, стимуляции клеточного звена иммунитета с расширением спектра защиты от микроорганизмов на длительный срок [11, 12, 15, 17].

Липополисахариды бактерий предотвращают иммуносупрессию вызванную введением вакцин, ускоряет формирование антиген-специфического клона клеток памяти и усиливают антиген-специфический иммунный ответ.

Препараты на основе липополисахаридов энтеробактерий (сальмонелл, эшерихий) индуцирует как синтез специфических, так и повышают образования неспецифических иммуноглобулинов. Иммуномодулирующие действие препаратов на основе липополисахаридов энтеробактерий связано, в том числе, с усилением образования антител, преимущественно изотипов LgG<sub>1</sub> и LgG<sub>2</sub>, что является положительным фактором при использовании этого препарата в комбинации с инактивированными вакцинами и создаёт благоприятный фон для формирования стойкого иммунитета при вакцинации животных.

Поэтому интерес к иммунорегулирующей терапии имеющей длительную историю резко возрос в последние годы и связан, прежде всего, с повышением сохранности и продуктивности животных [3, 4, 10, 17].

Таким образом, механизм действия препаратов липополисахаридов включает:

- а) индукцию эндогенных клеточных медиаторов;
- б) развитие воспалительного и иммунного ответа;
- в) развитие системных метаболических изменений.

Следует выделить направления применения липополисахаридов:

- коррекция приобретённого иммунодефекта;
- коррекция врождённого иммунодефицита;
- повышения продуктивности;
- превентивной иммунокоррекции (повышение эффективности и безопасности вакцин);
- повышения толерантности животных к токсинам (особенно кормовым);
- профилактики и лечения инфекционных заболеваний;
- профилактики и лечения неинфекционных заболеваний;
- лечения опухолей у человека;
- лечения диабета у человека.

Известно, что иммуногенность антигенов в значительной степени увеличивается с использованием при иммунизации неспецифических стимуляторов иммунитета.

В связи с этим перед нами встала задача – изучить возможность использования липополисахаридов соматических антигенов энтеробактерий (сальмонелл, эшерихий) в качестве иммуномодулирующего компонента нового адъюванта и сопоставить последний по биологической активности с коммерческим препаратом.

Иммунологические препараты на основе липополисахаридов бактерий в последние годы широко используются в Республике Беларусь. Так, Ковзов В.В. установил, что у телят с клиническими признаками энзоотического зоба низкие, относительно норм, показатели естественной резистентности и иммунной реактивности. Однако, у подопытных животных, которым вводили пирогенал, имелась тенденция к увеличению содержания в крови лейкоцитов, первоначально за счет нейтрофилов, а потом лимфоцитов [8].

Проценко В.М., Жишкевич Т.Р. изучали эффективность микробного липополисахарида и пирогенала для профилактики иммунодефицитных состояний и гастроэнтеритов у поросят – сосунов. Авторы установили, что введение микробных липополисахаридов поросятам ведет к снижению заболеваемости поросят с диарейным синдромом в 2, 8 – 3, 4 раза [13].

Производственное испытание препарата, имеющего в своем составе полисахариды соматических антигенов пуллорных бактерий, для профилактики гастроэнтеритов у поросят проводили Карпуть И.М. и др. [6]. Исследователи установили, что препарат имеющий в своем составе полисахариды соматического O-антигена бактерий пуллороза-тифа стимулирует иммунную защиту, профилактует развитие гастроэнтеритов, повышает среднесуточный прирост массы поросят от 25, 3 до 42, 6 %.

Бабина М.П. экспериментально исследовала препарат, содержащий полисахарид сальмонелл, для профилактики возрастного иммунодефицита и коррекции поствакцинального иммунитета к вирусу болезни Ньюкасла у цыплят. [1, 2]

Красочка П.А., Машеро В.А. изучали возможность стимуляции поствакцинального иммунитета при вирусных респираторных инфекциях с помощью бактериального липополисахарида, полученного из спорообразующих аэробных бактерий [9].

**Заключение.** Таким образом, в Республике Беларусь разработаны препараты на основе липополисахаридов бактерий: препараты на основе липополисахаридов условно-патогенных бактерий - сальмонелл и непатогенных для теплокровных животных – возбудителя европейского гнильца пчел *Vac. alvei*.

*Литература:* 1. Бабина, М.П. Профилактика желудочно-кишечных болезней у цыплят-бройлеров микробным полисахаридом / М.П. Бабина // Ученые записки ВГАВМ. - Витебск, 1999. – Т. 35, ч. 1. - С. 157-159. 2. Бабина, М.П. Препарат Сальмопол в повышении неспецифической и адаптивной защиты против болезни Ньюкасла / М.П. Бабина // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 2001. – Т. 37, ч. 2. - С. 7-8. 3. Баяева, Е.В. Функции иммунной системы при стрессовых воздействиях в раннем постнатальном онтогенезе: Автор. дисс. докт. биол. наук. 14. 00. 16. / Е.В. Баяева // НИИ эксп. мед. – Ленинград, 1991. – 34 с. 4. Басова, Н.Ю. Иммунологическая реактивность и её коррекция при респираторных болезнях телят / Н.Ю. Басова, А.Ч. Шипицин // Ветеринария. - 2005. - № 12. - С. 18. 5. Иммунотерапевтические возможности применения ликопида у больных с вторичными иммунодефицитными состояниями. Метод. реком. М., 1996.

6. Карпуть, И.М. Профилактика гастроэнтеритов у поросят посредством коррекции иммунной недостаточности / И.М. Карпуть, В.М. Проценко, Т.Р. Жишкевич // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 1999. – С. 180-182. 7. Кашкин, К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность / К.П. Кашкин // Клин. лаб. диагн. – 1998. – № 11. – С. 21-32. 8. Ковзов, В.В. Лечение телят, больных энзоотическим зобом с коррекцией иммунного статуса / В.В. Ковзов // Ученые записки: Материалы научно-практической конференции, посвященной 70-летию клинических кафедр, г. Витебск, 14-15 апреля 1998 г. – Витебск, 1998. – С. 42-44. 9. Красочко, П.А. Бактериальный липополисахарид – стимулятор поствакцинального иммунитета при вирусных, респираторных инфекциях телят / П.А. Красочко, В.А. Машеро // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 1998. – С. 144-146. 10. Красочко, П.А. Иммунитет и его коррекция в ветеринарной медицине / П.А. Красочко [и др.]. – Смоленск, 2001. – 340 с. 11. Начарова, Е.П. Превентивная иммунокоррекция как способ повышения эффективности и безопасности вакцинации / Е.П. Начарова, С.М. Харит, С.В. Петленко // Terra Medica. – 2004, 1(33). – Р. 134-137. 12. Орлов, Т.В. Зависимость эффективности вакцинопрофилактики гриппа от исходного состояния иммунной системы / Т.В. Орлов, Ю.Г. Суховой, И.Г. Унтер // Эпидемиол. вакцинопроф. – 2004. – 4 (17). – С. 17-20. 13. Проценко, В.М. Липополисахариды в коррекции иммунной недостаточности в профилактике гастроэнтеритов у поросят / В.М. Проценко, Т.Р. Жишкевич // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 1998. – С. 66-88. 14. Рябиченко, Е.В. Цитокиностимулирующая активность липополисахарида грамотрицательных бактерий и его роль в противоопухолевом иммунитете / Е.В. Рябиченко, В.М. Бондаренко, Л.Г. Веткова // ЖМЭИ. – 2005. – №6. – С. 76-81. 15. Семененко, Т.А. Эпидемиологическое обоснование применения иммуномодуляторов для профилактики массовых инфекционных заболеваний человека: Автореф. дисс. доктора мед. наук / Т.А. Семененко. – М., 1989. – 36 с. 16. Слободянок, В.И. Иммуномодуляция защитных факторов организма коров / В.И. Слободянок // Ветеринария. – 2002. – № 2. – С. 29-34. 17. Шляхов, Э.Н. Стимуляция поствакцинального процесса (на примере иммунизации против сибирской язвы) / Э.Н. Шляхов, В.Ф. Кику. – Кишинёв: Штипанца, 1984. – 200 с. 18. Якубовский, М.Я. Иммунопрессивное влияние на организм животных некоторых паразитов и химиотерапевтических средств и эффективности иммуномодуляторов при паразитарных болезнях / М.Я. Якубовский // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001. – №1. – С. 18-21.

УДК 619:616.98:579.843.95-091:636.4

## ПАТО- И ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛЕГКИХ И ОРГАНАХ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У СВИНЕЙ ПРИ ПАСТЕРЕЛЛЕЗЕ

Казючиц М. В., Прудников В. С.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

*У животных, павших от пастереллеза, при патологоанатомическом вскрытии выявляется крупозная или катарально-фибринозная пневмония и уменьшение количества лимфоцитов в органах иммунной системы.*

*During pathologoanatomical autopsy the croupous or catarrhal-fibrinous pneumonia and the decrease of number of lymphocytes in organs of immunity system are revealed in animals dead from pasteurellosis.*

**Введение.** Пастереллез – инфекционное заболевание млекопитающих и птиц, характеризующееся явлениями геморрагической септицемии с преимущественным поражением легких и серозных оболочек грудной полости [1].

В наше время, вследствие изменения условий содержания, кормления и широкого, часто эмпирического использования антибактериальных препаратов, клинические признаки и патоморфологические изменения при многих заболеваниях изменяются, что обуславливает значительные трудности в их диагностике, лечении и профилактике [2]. Изменения клинико-морфологической картины болезни под действием различных факторов называют патоморфозом.

**Материалы и методы.** Нами проведено комплексное изучение пато- и иммуноморфологических изменений при типичном легочном пастереллезе свиней, лечение которых не проводилось.

Всего был исследован патматериал от 18 трупов и вынужденно убитых поросят в возрасте 2-4 месяца. Для исследования отбирались кусочки легких, средостенных, бронхиальных и брыжеечных лимфоузлов, тимуса и селезенки. Патматериал фиксировали в 10%-м формалине. Гистосрезы получали на замораживающем микротоме и окрашивали гематоксилин-эозином.

**Результаты.** У павших животных от типичного пастереллеза при патологоанатомическом вскрытии постоянно выявляли крупозную или катарально-фибринозную пневмонию. При этом в легких находили участки гиперемии, красной и серой гепатизации и очаги некроза серо-желтого цвета с неровными краями, которые на разрезе были матовыми и напоминали сыроподобные массы. Иногда крупозная пневмония сопровождалась фибринозным плевритом, который в одних случаях был очаговым и локализовался над пораженными участками легких, а в других распространялся на всю плевру.

В слизистой оболочке между кольцами трахеи часто выявлялись полосчатые кровоизлияния, а в слизистой оболочке гортани наблюдалась гиперемия сосудов и точечные кровоизлияния.

При проведении гистологического исследования установлено, что в сосудах легких клетки крови располагаются неравномерно, наблюдается их увеличение в направлении: большие артерии, средние артерии, артериолы, прекапилляры, посткапилляры и венулы. В просвете некоторых сосудов наблюдается склеивание эритроцитов (сладж-феномен). В некоторых сосудах выявляются микроразрывы слоев их стенки. Вокруг многих сосудов наблюдался разrost плотной соединительной ткани. В просвете сосудов всех типов между клеточными элементами крови выявлялись бактерии в виде отдельных клеток округлой или овальной формы размером около 1 мкм или относительно больших их скоплений (колоний). Бактерии также локализируются в цитоплазме моноцитов и макрофагов, на поверхности и в цитоплазме эндотелиальных клеток, между