

что применение биологически активного сорбирующего комплекса является эффективным способом снижения поступления экотоксикантов в животноводческую продукцию.

Анализ полученных результатов по определению содержания сульфгидрильных групп в сыворотке крови показал, что количество общих SH-групп статистически достоверно увеличивалось в группах кроликов, которые получали разные варианты биологически активного сорбирующего комплекса, включающего натрия тиосульфат, по сравнению с животными контрольных групп. Одновременно наблюдалось снижение содержания тиоловых групп относительно контроля у животных, которые получали экотоксиканты без применения биологически активного сорбирующего комплекса.

**Заключение.** Данные литературы и результаты собственных исследований свидетельствуют, что натрия тиосульфат представляет собой не только детоксикант, но также и средство, потенциально способное участвовать в регуляции антиоксидантно-антирадикальной системы организма, повышать радиорезистентность и общую неспецифическую резистентность. Это позволяет рассматривать натрия тиосульфат как перспективное соединение для применения в составе сорбционно-детоксицирующих комплексов при сочетанном поступлении в организм животных с кормом радиоактивных веществ и тяжелых металлов.

**Литература.** 1. Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И. Человек и противooksидлительные вещества. – Л. Наука. – 1985. – 230 с. 2. Граевский Э.Я., Тарасенко А.Т. Тиольная концепция радиочувствительности //Радиобиология. – 1972. – 12; 3. – С. 684-692. 3. Оксенгендлер Г.И. Яды и противоядия. – Л. Наука. – 1982. – 192 с. 4. Резункова О.П. Тиолдисульфидный статус крови больных раком легкого при комбинированном методе лечения / Л.И. Корытова, О.П. Резункова, Е.Ю. Бусина // СПб.: Вестник Балт. педаг. академии. – 2003. – вып. 51. – С. 129-134. 5. Соколовский В.В. Тиолдисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма // СПб.: МАПО. – 1996. – С. 30. 6. Солопов В.Н., Резников И.И., Чучалин А.Г. Роль серосодержащих соединений в патогенезе и лечении хронических неспецифических заболеваний легких // Клиническая медицина. – 1988. – № 6. – С. 60-63. 7. Торчинский Ю.М. Сульфгидрильные и дисульфидные группы белков. – М.: Наука. – 1971. – 229 с. 8. Фоломеев В.Ф. Фотоколориметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белка и небелковых соединений крови // Лабораторное дело. – 1981. – № 1. – С. 33-35.

УДК 325:56.1265

#### ОТРАБОТКА ОПТИМАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ КОМПОНЕНТОВ КОМПЛЕКСНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ СВИНЕЙ

\*Красочко П.А., \*Борисовец Д.С., \*Ястребов А.С., \*Андросик Л.Д., \*\*Яромчик Я.П.

\* РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск;

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

**Введение.** Проблема борьбы с респираторными болезнями свиней, обусловленными вторичными иммунодефицитами различного происхождения, в том числе иммунодефицитами, вызываемыми возбудителями репродуктивно-респираторного синдрома, цирковирусной инфекции, коронавирусной респираторной инфекции, некоторыми возбудителями бактериальных инфекций остается актуальной. Возникает необходимость в коррекции иммунитета [9]. Одним из перспективных направлений коррекции иммунитета является использование средств для повышения

функциональной активности иммунной системы, определенное место среди таких средств, обладающих способностью стимулировать иммунную систему, занимают препараты, на основе цитокинов [5, 7]. Проведение иммунокоррекции препаратами на базе цитокинов в основном связана с применением интерферонов.

Интерферон (ИФН) представляет собой гликопротеид с молекулярной массой от 12 до 160 кДа, обладает противовирусным действием и иммуномодулирующими свойствами. Доказано, что система ИФН представлена практически в каждой клетке организма. Интерферон не проникает в клетку, а действует через мембранорецепторные механизмы, не спасая зараженные вирусом клетки [10, 11]. Он индуцирует механизм противовирусной защиты в окружающих здоровых клетках, подавляя репродукцию вируса. В большей степени чувствительными к ИФН оказались РНК-вирусы и в меньшей степени - ДНК-вирусы [3, 12]. ИФН как иммуномодулятор представляет собой биологический препарат, способный восстанавливать нарушенные функции иммунной системы. Применяется в виде монопрепарата, а также в сочетании с другими препаратами [1]. Установлено, что сочетанное применение ИФН с антибиотиками, витаминами усиливает действие интерферона и антибиотиков, витаминов, входящих в состав комплексного биологического препарата [6].

Большой научный интерес также представляет изучение сочетанного действия ИФН с иммуностимуляторами микробного, растительного происхождения и синтетическими препаратами [8].

Одним из иммуностимуляторов микробного происхождения является альвеозан, представляющий собой липополисахарид, полученный из бактерии *Bacillus alvei*. По литературным данным его иммуностимулирующее действие заключается в том, что он обладает способностью повышать неспецифическую естественную резистентность организма животных и активизировать поствакцинальный иммунитет [2, 4].

Целью наших исследований являлось изучение оптимальных соотношений компонентов комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона и альвеозана, предназначенного для профилактики и терапии респираторных болезней свиней.

**Материал и методы исследований.** Исследования проводились в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

В качестве компонентов для конструирования комплексного биологического препарата использовали свиной рекомбинантный интерферон (СВИФН), полученный из *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL рIP2403 с плазмидой рЕТ24b(+) на кафедре микробиологии биологического факультета Белорусского государственного университета (Республика Беларусь, г. Минск), и иммуностимулятор на основе липополисахаридов из бактерии *Bacillus alvei*, полученных методом щелочного гидролиза в отделе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Компоненты препарата: интерферон и иммуностимулятор соединяли в соотношениях 1:1; 2:1; 1:2; 5:1; 1:5.

Стерильность образцов препарата определяли на питательных средах в соответствии с ГОСТ 28085-89 «Препараты биологические. Методы бактериологического контроля стерильности».

Антивирусную и иммуностимулирующую активность препарата изучали в системе *in vitro* на культуре клеток СПЭВ с вирусом трансмиссивного гастроэнтерита (ТГС), *in vivo* – на лабораторных животных (кроликах и белых мышах).

Противовирусную активность образцов препарата определяли по подавлению цитопатогенного действия тест-вируса (вирус ТГС в дозе 100 ТЦД<sub>50</sub>/0,1 мл) в культуре перевиваемых клеток почки эмбриона свиньи – СПЭВ, выращенных в 96-луночных культуральных планшетах. За титр препарата принимали величину, обратную разведению пробы, при котором наблюдается 50% защита клеток от цитопатогенного действия (ЦПД) тест-вируса.

В опыте на белых мышах ж.м. 16 - 18 г. и кроликах ж.м. 2,5 - 2,8 кг изучали безвредность и токсичность комплексного биологического препарата, определяли оптимальное соотношение его компонентов.

Белых мышей в количестве 60 голов разделили на 5 групп (по 10 мышей в группе). Препарат вводили мышам подкожно в области спины в течение 3-х дней подряд в дозе 0,2 см<sup>3</sup>. Животным 1-й группы вводили препарат в соотношении компонентов 1:1, 2-й - в соотношении компонентов 2:1, 3-й - в соотношении компонентов 1:2, 4-й - в соотношении компонентов 5:1. Белые мыши 5-й группы служили контролем (животным препарат не вводили).

Одновременно 4 образца препарата с различными соотношениями компонентов вводили 15 кроликам, которых разделили на 5 групп (4 опытных и одна контрольная) по три головы в каждой группе. Препарат вводили внутримышечно в дозе 1,0 см<sup>3</sup> на животное ежедневно в течение 3-х дней подряд. Три кролика служили контролем.

Наблюдение за животными проводилось в течение 30 суток после введения препарата. При наблюдении за лабораторными животными учитывали их поведение (возбуждение или угнетение), внешний вид, аппетит, жажду, степень проявления реакции на внешние раздражители.

Через 14 и 28 дней после введения комплексного биологического препарата с различными соотношениями компонентов у лабораторных животных отбирали пробы крови.

Для изучения иммуностимулирующей активности образцов комплексного биологического препарата с различным соотношением компонентов в крови лабораторных животных были определены следующие показатели: содержание Т- и В-лимфоцитов методом розеткообразования со стабилизированными эритроцитами барана и мыши по Д.К.Новикову и В.И.Новиковой (1979); бактерицидная активность сыворотки крови по Смирновой и Кузьминой (1968); лизоцимная активность сыворотки крови по Дорофейчуку (1966).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием компьютерных программ Biostat и Excel 2010.

На основании полученных результатов определяли оптимальное соотношение компонентов в препарате в системе *in vivo* в лабораторных условиях.

**Результаты исследований.** При изучении противовирусной активности различных соотношений комплексного биологического препарата (1:1; 2:1; 1:2; 5:1; 1:5) в системе *in vitro* на культуре клеток СПЭВ с вирусом трансмиссивного гастроэнтерита свиней (100 ТЦД<sub>50</sub>/0,1 мл) установили, что оптимальным соотношением компонентов биологического препарата (интерферон: иммуностимулятор) является соотношение 2:1. Препарат при таком соотношении компонентов защищает 57% клеток от цитопатогенного действия вируса ТГС, при соотношении 5:1 – 26,7%. Не отмечено защиты клеток от цитопатического действия вируса при соотношении компонентов в препарате 1:5, поэтому данный образец препарата не использовался в опытах *in vivo*.

После введения лабораторным животным опытных групп 4 образцов комплексного биологического препарата с различным соотношением моноконпонентов (1:1; 2:1; 1:2; 5:1) в процессе наблюдения в течение 30 дней изменений их клинического состояния не наблюдалось.

Применяемые образцы комплексного биологического препарата оказались стерильными, безвредными и ареактогенными.

Результаты изучения влияния комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона и иммуностимулятора с различными соотношениями моноконпонентов на показатели неспецифической резистентности организма лабораторных животных представлены в таблице 1.

Результаты исследований, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о том, что после введения комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона и иммуностимулятора с различными соотношениями компонентов в организме лабораторных животных происходит иммунологическая перестройка, которая характеризуется повышением показателей неспецифического иммунитета через 14 и 21 день после введения препарата. Так, во всех опытных группах животных отмечается повышение уровня лизоцимной активности сыворотки крови в среднем на 0,25-1,2%, однако в сравнении с контрольной группой животных эти изменения не являются достоверными. Достоверно по отношению к контрольной группе ( $P \leq 0,05$ ) повышение лизоцимной активности сыворотки крови на 2,31%

происходит в крови животных 1-ой опытной группы через 21 день после введения комплексного биологического препарата с соотношением компонентов 1:1.

**Таблица 1 - Показатели неспецифической резистентности у белых мышей после введения комплексного биологического препарата с различными соотношениями компонентов**

Срок взятия крови	Группы животных	Соотношения монокомпонентов интерферон: альвеозан	Показатели	
			Лизоцимная активность сыворотки крови, %	Бактерицидная активность сыворотки крови, %
До введения КБП	ОГ 1	1:1	3,76±0,03	27,8±4,38
	ОГ 2	2:1	3,87±0,47	23,3±3,7
	ОГ 3	1:2	5,02±0,01	23,4±2,95
	ОГ 4	5:1	4,7±0,02	47,5±7,43
	Контрольная	-	4,68±0,15	30,5±1,04
Через 14 дней после введения	ОГ 1	1:1	5,24±0,01	29,5±0,64*
	ОГ 2	2:1	5,32±0,69	29,7±0,66*
	ОГ 3	1:2	5,05±0,17	25,7±1,75
	ОГ 4	5:1	5,18±0,49	27,4±3,04
	Контрольная	-	4,84±0,01	25,1±1,16
Через 21 день после введения	ОГ 1	1:1	6,07±0,33*	28,2±1,76
	ОГ 2	2:1	5,08±0,28	33,1±2,7*
	ОГ 3	1:2	5,37±0,12	23,7±2,33
	ОГ 4	5:1	4,95±0,56	27,3±2,73
	Контрольная	-	4,85±0,15	24,4±1,3

Примечание: \* –  $P \leq 0,05$ .

Бактерицидная активность сыворотки крови белых мышей после трехкратного введения комплексного биологического препарата достоверно увеличивалась на 1,7 и 6,4% ( $P \leq 0,05$ ) при соотношении компонентов 1:1 и 2:1 соответственно, а на 21 день происходит достоверное увеличение данного показателя на 9,8% ( $P \leq 0,05$ ) во второй опытной группе животных.

Результаты изучения влияния комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона и иммуностимулятора с различными соотношениями компонентов на клеточный иммунитет кроликов представлены в таблице 2.

Из данных, приведенных в таблице 2, вытекает, что применение комплексного биологического препарата с различным соотношением компонентов приводит к стимуляции клеточного иммунитета кроликов, вызывая повышение количества Т- и В-лимфоцитов на 21 сутки в среднем на 12,6 и 14% соответственно в сравнении с первоначальным уровнем. Однако достоверное увеличение представленных показателей происходит через 14 суток во второй опытной группе животных, где количество Т-лимфоцитов увеличилось на 9,8% ( $P \leq 0,05$ ), и на 21 сутки в первой опытной группе происходит достоверное увеличение количества В-лимфоцитов на 20,91% ( $P \leq 0,01$ ).

**Таблица 2 - Показатели клеточного иммунитета кроликов после введения комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона и иммуностимулятора с различными соотношениями компонентов**

Срок взятия крови	Группы животных	Соотношения монокомпонентов интерферон : альвеозан	Показатель	
			Т-лимфоциты, %	В-лимфоциты, %
1	2	3	4	5
До иммунизации	ОГ 1	1:1	60,33±3,18	20,03±1,86
	ОГ 2	2:1	55,33±0,88	18,3±1,16
	ОГ 3	1:2	42,33±1,2	15,26±0,55
	ОГ 4	5:1	57±2	25,01±2,33
	Контрольная	-	53±4,58	20,07±1,21
Через 14 дней	ОГ 1	1:1	70,69±8,46	37,34±4,07
	ОГ 2	2:1	65,13±3,06*	30,31±2,45
	ОГ 3	1:2	55,95±1,38	28,05±2,67
	ОГ 4	5:1	67,15±6,5	34,94±2,37
	Контрольная	-	51,32±1,54	28,01±1,15
Через 21 день	ОГ 1	1:1	71,91±7,52	40,94±0,71**
	ОГ 2	2:1	67,95±3,02	34,53±1,19
	ОГ 3	1:2	55,34±0,63	31,38±1,48
	ОГ 4	5:1	70,37±8,03	34,81±1,85
	Контрольная	-	52,37±5,01	30,07±1,43

Примечание: \* – P≤0,05, \*\* – P≤0,01.

**Заключение.** Проведенные исследования показывают, что оптимальными соотношениями компонентов в комплексном биологическом препарате на основе интерферона и альвеозана являются соотношения 1:1 и 2:1. Использование препарата с указанными соотношениями компонентов способствует достоверному увеличению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови лабораторных животных на 9,8 и 2,31%, количества Т- и В-лимфоцитов – на 9,8 и 20,91% соответственно.

**Литература.** 1. Гизатулина, С.Р. Сравнительная оценка применения интерферонов экзогенного и эндогенного воздействия при инфекционном ринотрахеите у телят / С.Р. Гизатулина // Ветеринарная патология. – 2003. – № 2. – С. 17-18. 2. Дубина И.Н., Гласкович А.А., Красочко П.А. Альвеозан как средство активизации естественной резистентности кроликов // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – Горки. – 2000. – с. 233-238. 3. Ершов, Ф.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств) / Ф.И. Ершов, О.И. Киселев. — М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2005. – 368 с. 4. Красочко П.А. Активизация поствакцинального иммунитета у телят с помощью препарата альвеозан // Актуальные проблемы патологии с.-х. животных. Материалы международной научно-практической конференции. – Минск. – 2000. – с. 120-123. 5. Машковский М.Д. Препараты, корригирующие процессы иммунитета (иммуномодуляторы, иммунокорректоры) // В кн.: Лекарственные средства (пособие для врачей). – 1993. – часть 2. – с. 192-209. 6. Прокулевич В.А., Потапович М.И. Ветеринарные препараты на основе интерферона // Вестник Белорусского государственного университета. - 2011. – серия 2. - №3. – с. 51-55. 7. Санин, А.В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных / А.В. Санин // Российский журнал ветеринарной медицины. – 2005. – № 1 – С. 38-42. 8. Хантов Р.М., Пинегин Т.В. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения // Иммунология. – 2000, №5. – с. 4-7. 9. Хмылов, А.Г. Коррекция иммунной системы поросят на промышленных комплексах // Свиноводство. – 2010, №5. – с. 47-49. 10. Epstein O.I., Dugina M.V., Kachanova S.A. et al. Antiviral Activity of Antibodies to Interferon – Gamma in ultra – Low Doses // Вестник международной академии наук (русская секция). 2008. 2. P.20-23. 11. Hui Qi et al. Study on using Rabies Vaccine and Interferon – alfa-2b for Antirabies protective Effect of Mouse // J. of Anhui Agricultural Sciences. – 2008 – 09. 12. Susan L. Brockmeier, Crystal L. Loving, Eric A. Nelson et al. The presense of Alpha Interferon at the Time of Intection on Alters the innate and Adaptive Immune Responses to Porcine Reproductive and Respiratory Sindrome Virus // Clinical and Vaccine immunology. – April 2012, Nol. 19, №4. – P. 508-514.