

специфической профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота на сохранность молодняка / А. П. Порываева [и др.] // Ветеринарный врач. – 2018. – № 3. – С. 24–27. 3. Вирусы и вирусные вакцины / В. А. Сергеев, Е. А. Непоклонов, Т. И. Алипер. – Москва : Библионика, 2007. 4. Инфекционные болезни животных, регистрируемые в Союзном государстве / П. А. Красочко, Н. И. Гавриченко, О. Ю. Черных [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Чеченский государственный университет, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, 2020. – 385 с. – ISBN 978-5-907373-70-9. – EDN NVEVJY. 5. Красочко, П. А. Серологический мониторинг вирусных пневмоэнтеритов крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь / П. А. Красочко, М. А. Понаськов, П. П. Красочко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины. – 2022. – Т. 58, № 1. – С. 26-30. – DOI 10.52368/2078-0109-58-1-26-30. – EDN STIHHД. 6. Красочко, П. А. Современные подходы к специфической профилактике вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекций крупного рогатого скота / П. А. Красочко, И. А. Красочко, С. Л. Борознов // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2008. – Т. 6. – С. 243-251. – EDN MOUHVZ. 7. Красочко, П. А. Профилактика инфекционных болезней животных - приоритет биологической безопасности Союзного государства / П. А. Красочко, П. П. Красочко // Научные достижения Республики Беларусь : сборник материалов Дней белорусской науки в г. Москве. – Минск : Государственное учреждение «Белорусский институт системного анализа и информационного обеспечения научно-технической сферы», 2017. – С. 161-163. – EDN ZDPVTL. 8. Методические рекомендации по профилактике, лечению и мерам борьбы с пневмоэнтеритами телят / П. А. Красочко, Н. В. Савицкий, Ю. Г. Зелютков [и др.] ; Белорусский НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Минск : Энциклопедикс, 2000. – 40 с. – ISBN 985-6599-07-5. – EDN ZEFAPZ. 9. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учебно-методическое пособие / И. Н. Громов [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Кафедра патологической анатомии и гистологии. - Витебск : ВГАВМ, 2020. – 63 с.

УДК 57.085.23 + 577.114

ОЦЕНКА ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛИПОПЛИСАХАРИДОВ ИЗ БАЦИЛЛ И ДРОЖЖЕЙ

***Красочко П.А., *Красочко И.А., **Щемелева Н.Ю., *Чайковский В.В.,
***Попова П.Ю.**

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

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

***ФГБОУ ВО «Смоленская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Смоленск, Российская Федерация

*Проведены исследования по изучению острой и хронической токсичности бактериальных липополисахаридов из *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisi*. Установлено, что при изучении острой и хронической токсичности иммуностимулирующих препаратов - ЛПС из *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisi* они не обладают токсичностью и относятся к 4-му классу опасности (вещества малоопасные) по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования». **Ключевые слова:** бактериальные липополисахариды, токсичность, бациллы, дрожжи.*

EVALUATION OF ACUTE AND CHRONIC TOXICITY OF LIPOPLYSACCHARIDES FROM BACILLI AND YEASTS

***Krasochko P.A., *Krasochko I.A., **Schemeleva N.Yu., *Chaikovskiy V.V.,
***Popova P.Yu.**

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

**Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S.N. Vyshellesky, Minsk,
Republic of Belarus

***Smolensk State Agricultural Academy, Smolensk, Russian Federation

*Studies on acute and chronic toxicity of bacterial lipopolysaccharides from *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces brevisi* have been carried out. It has been established that in the study of acute and chronic toxicity of immunostimulating preparations - LPS from *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisi* they have no toxicity and belong to the 4th class of danger (low-hazard substances) according to GOST 12.1.007-76 «Harmful substances. Classification and general requirements».*

Keywords: bacterial lipopolysaccharides, toxicity, bacilli, yeast.

Введение. При современном ведении промышленного животноводства, обусловленного безвыгульным выращиванием животных на ограниченных площадях, высокая их концентрация, наличие стрессов приводит к угнетению иммунной системы у животных. На этом фоне активизируется условно-патогенная микрофлора, повышается заболеваемость и отход животных. В этой связи для повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий при болезнях и животных крайне необходимо использование иммуностимуляторов. В связи с этим появилось новое направление в иммунологии – иммунологическая регуляция или иммунокоррекция. Из линейки иммунокорректоров или иммуностимуляторов в последние годы внимание исследователей привлекают бактериальные липополисахариды (ЛПС) [3, 6, 8, 9].

Широкий спектр биологической активности ЛПС связывают с широким диапазоном молекулярных масс, констатируя, что физиологическая активность хорошо коррелирует с величинами молекулярных масс. Так, низкомолекулярные ЛПС (5000 - 15000) имеют тенденцию к проявлению *антикомплементарной активности*, в то время как высокомолекулярные (75000-125000) стимулируют ретикулоэндотелиальную

систему. *Антикомплементарная активность* сводится к тому, что формирование мембраноатакующего комплекса происходит на О-специфических полисахаридных цепях, а не на мембране бактериальной клетки. Это защищает бактерию от лизиса [6, 9].

Липополисахариды стимулируют многие защитные реакции организма: увеличивают количество лейкоцитов и их фагоцитарную активность, повышают активность системы комплемента, резистентность клеточных и субклеточных мембран к действию повреждающих агентов. Под влиянием ЛПС макрофаги, полиморфно-ядерные нейтрофилы и другие клетки продуцируют интерлейкины (ИЛ-1, ИЛ-6), простагландины, оксид азота (NO), кислородные радикалы и др.

Поликлональный активирующий эффект липополисахаридов может быть реализован без участия макрофагов и Т-лимфоцитов, хотя Т-клетки с регулирующей поликлональный ответ функцией, возможно, могут вовлекаться в процесс за счет прямого воздействия на них липополисахаридов. Рассматривая механизм неспецифического иммуностимулирующего действия компонента микробных клеток, большинство авторов считают, что они преимущественно действуют на популяцию В-клеток, а также активируют синтез неспецифических иммуноглобулинов. Взаимодействие ЛПС со специфическими рецепторами на поверхности В-лимфоцитов сопровождается увеличением поступления ионов кальция внутрь этих клеток с последующим быстрым увеличением уровня циклического гуанидинмонофосфата и медленным нарастанием уровня циклического аденозинмонофосфата [1, 4, 7, 8].

Благодаря способности ЛПС активировать фагоцитирующие клетки происходит выброс лизосомальных энзимов, усиление метаболизма арахидоновой кислоты, ускорение кислородного метаболизма, что, с одной стороны, может быть причиной повреждения близлежащих клеток (в частности, эндотелиальных), а с другой – интенсификации процессов фагоцитоза. Последний может усиливаться способностью ЛПС обуславливать активацию синтеза гамма-интерферона, фибронектина и С3b-компонента комплемента, которые являются мощными опсонинами. Однако стимулирующим эффектом на мононуклеарные фагоциты обладают лишь низкие дозы ЛПС, тогда как более высокие, напротив, блокируют их основные функции. Дисфункция системы фиксированных макрофагов печени является одним из ключевых звеньев в развитии самой тяжелой системной реакции организма на ЛПС – эндотоксинового шока. Хорошо известны адьювантные эффекты ЛПС. Он способен вызывать пролиферацию, дифференцировку и активацию Т- и В-лимфоцитов, в результате чего стимулируется как клеточное, так и гуморальное звено иммунного ответа на любые антигены. Возникающие как следствие эндотоксиновой агрессии гиперпродукция цитокинов и медиаторный хаос сменяются глубокой депрессией системы фиксированных макрофагов со всеми вытекающими отсюда последствиями (включая угнетение синтетической и секреторной функции клеток-мишеней).

Учитывая высокую биологическую активность бактериальных ЛПС, возникает необходимость изучения токсикологической оценки иммуностимулирующей активности этой группы иммуностимуляторов.

Целью настоящих исследований является изучение острой и хронической токсичности липополисахарида из *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisiae* на лабораторных животных.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на базе кафедр микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и инфекционных болезней УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского».

Изучение острой и хронической токсичности иммуностимуляторов проводили согласно «Методических указаний по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии» [5]. В опыте использовали 70 белых мышей клинически здоровых весом 18-20 г.

Бактериальные липополисахариды получали методом щелочного гидролиза гидрооксидом натрия с последующим осаждением соляной кислотой.

Перед началом исследования методом аналогов из здоровых мышей, были сформированы контрольная и опытные группы по пять голов в каждой.

Для определения показателей острой токсичности испытуемые образцы ЛПС из *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisi* вводили белым мышам различных опытных групп внутрь в максимальном объеме 0,5 мл. Максимальная доза испытуемого образца препарата составила 1400 мкг/кг массы для мышей, что в 140 раз превышало максимальную суточную дозу. Контрольной группе вводили аналогичные максимальные объемы дистиллированной воды для инъекций.

После введения препарата за опытными животными вели постоянное наблюдение в течение 14 дней. Оценивали общее состояние (поведение, внешний вид, состояние шерсти, кожного покрова) и сохранность. Учитывали потребление корма и воды.

При отсутствии летальных исходов от воздействия максимально возможного объема испытуемого препарата применили «тест накопления». Препарат ввели белым мышам опытных групп в количестве 5 голов внутрь в максимально возможной концентрации в объеме 1 мл, составляющем до 5 % массы тела с интервалом между введениями 1,5 часа по 0,5 мл на каждое введение в течение суток. Мышам контрольной группы вводили аналогичные максимальные объемы дистиллированной воды для инъекций. Оценивали общее состояние (поведение, внешний вид, состояние шерсти, кожного покрова) и сохранность. Учитывали потребление корма и воды.

С целью определения хронической токсичности по принципу аналогов были сформированы пять групп белых мышей - две опытных и контрольная по 5 голов в каждой, имеющих среднюю живую массу 20-22 г. Мышам первой опытной группы ежедневно внутрь вводили испытуемый ЛПС из *Bacillus subtilis* в трёхкратно увеличенной терапевтической дозе в течение 10-ти дней. Мышам второй опытной группы применяли ЛПС из *Bacillus subtilis* в терапевтической дозе в течение 10-ти дней. Мышам третьей опытной группы ежедневно внутрь вводили испытуемый ЛПС из *Saccharomyces cerevisi* в трёхкратно увеличенной терапевтической дозе в течение 10-ти дней. Мышам четвертой опытной группы применяли ЛПС из *Saccharomyces cerevisi* в терапевтической дозе в течение 10-ти дней. Мышам пятой - контрольной группы вводили аналогичные объемы дистиллированной воды для инъекций. Оценку проводили на основании данных осмотра на протяжении всего срока введения препарата и последующих 7 суток.

После окончания опыта провели вскрытие и макроскопическое исследование внутренних органов у мышей для выявления патологических изменений и различий между опытными и контрольными группами не выявили.

Результаты исследований. В опыте по изучению острой токсичности на белых мышах при внутреннем введении ЛПС из *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisi* ЛД₅₀ установить не удалось, т.к. при максимальном количестве введенного препарата гибели не отмечено. Сохранность во всех группах составила 100 %. Все исследуемые животные имели нормальные реакции, хороший аппетит, здоровый внешний вид. В дальнейшем, за период наблюдения по общему состоянию и поведению опытные группа не отличалась от контрольной. Достоверной разницы по потреблению воды и корма в группах не отмечалось.

При отсутствии летальных исходов от воздействия максимально возможного объема испытуемого препарата применили «тест накопления».

За период наблюдения по общему состоянию и поведению мыши опытной групп не отличались от контрольной. Сохранность во всех группах составила 100 %. Все исследуемые животные имели нормальные реакции, хороший аппетит, здоровый внешний вид.

Исследования по изучению острой токсичности испытуемых образцов ЛПС из *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisi* на белых мышах, показали, что иммуностимуляторы не оказывают токсического действия на их организм. Результаты работы позволили сделать вывод о том, что ЛПС из *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisi* не обладает токсичностью и согласно ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования» относятся к 4-му классу опасности (вещества малоопасные).

С целью определения хронической токсичности по принципу аналогов были сформированы три группы белых мышей – четыре опытных и контрольная по 5 голов в каждой. Оценку проводили на основании данных осмотра на протяжении всего срока введения препарата и последующих 7 суток.

За период наблюдения по общему состоянию и поведению мыши опытных групп не отличались от контрольной. Все исследуемые животные имели нормальные реакции, хороший аппетит, здоровый внешний вид. После окончания опыта провели вскрытие и макроскопическое исследование внутренних органов у мышей, при этом патологических изменений и различий между опытными и контрольными группами не выявили. Слизистые оболочки были без видимых изменений. Внутренние органы были нормального размера, формы и топографического расположения, отека и кровоизлияний обнаружено не было.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования по изучению острой и хронической токсичности иммуностимулирующих препаратов - ЛПС из *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisi* показали, что они не обладает токсичностью и ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования» относятся к 4-му классу опасности (вещества малоопасные).

Литература. 1. Гурбанова, С. Ф. Влияние бактериальных липополисахаридов на клеточный и гуморальный иммунитет у мышей, зараженных *Candida albicans* / С. Ф. Гурбанова // Проблемы медицинской

микологии. – 2007. – Т. 9. – № 3. – С. 37-39. 2. Демидчик, Л. Г. Бактериальный липополисахарид-стимулятор поствакцинального иммунитета при вирусных респираторных инфекциях телят / Л. Г. Демидчик // Ветеринария. Реферативный журнал. – 2000. – № 2. – С. 404-404. 3. Красочко, П. А. Иммуностимуляторы и современные способы коррекции иммунного ответа / П. А. Красочко, В. А. Машеро // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2004. – № 1. – С. 32-36. – EDN YLHAGV. 4. Методические рекомендации по использованию бактериальных липополисахаридов для стимуляции иммунной системы животных / П. А. Красочко, Д. С. Борисовец, В. А. Самсонович [и др.] ; Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. – Минск, 2013. – 42 с. – EDN NXLUDO. 5. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / А. Э. Высоцкий, М. П. Кучинский, Б. Я. Бирман [и др.] ; Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 2007. – 156 с. – EDN ZEFAXR. 6. Общие вопросы иммунологии и возникновения иммунодефицитов / П. А. Красочко, В. М. Холод, С. В. Шабунин [и др.]. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2021. – 435 с. – ISBN 978-5-907430-22-8. – EDN RJJOOQ. 7. Поплавская, Е. А. Эмбриотропное действие бактериальных липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов (*E. coli* и *S. marcescens*) при введении их самцам крыс перед спариванием / Е. А. Поплавская, Р. Е. Лис // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2007. – № 1 (17). – С. 165-166. 8. Поплавская, Е. А. Влияние бактериальных липополисахаридов грамотрицательных бактерий (*E. coli* и *S. marcescens*), введенных самцам крыс, на активность ферментов в цитоплазме сперматоцитов первого порядка / Е. А. Поплавская, Р. Е. Лис // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2014. – № 4. – С. 81-85. 9. Прикладные аспекты иммуномодуляции с использованием средств природного происхождения / П. А. Красочко, В. М. Холод, С. В. Шабунин [и др.]. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, 2021. – 398 с. – ISBN 978-5-907430-21-1. – EDN AFNWKN.

УДК 619:618.14-002

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРОПИЛЕНГЛИКОЛЕВЫХ ЭКСТРАКТОВ

Кузьмич Р.Г., Мирончик С.В., Бабаянц Н.В., Красочко П.П.

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

В научной статье описаны результаты изучения антимикробной активности водно-пропиленгликолевых экстрактов лапчатки, календулы, душицы, клевера, лабазника, в форме ЭМА-1. Было установлено, что экстракт лапчатки эффективно задерживает рост штамма *Streptococcus*