

роструктур определены не мутацией в белке, а условиями при мультимеризации мономеров.

Литература

1. Syomin B.V., Fedorova L.I., Surkov S.A., Ilyin Yu.V.. Mol. Gen. Genet. -2001.-264.P. 588-594.
2. Syomin B., Ilyin Yu.. Biochem.Biophys. -2006.-408.-P. 120-122.
3. Syomin B.V., Leonova O.G., Trendeleva T.A., Zviagil'skaia R.A., Ilyin Yu. V. Popenko V.I.. Mol. Biol. -2012.-46.-P. 298-307
4. Yoshioka K. et al. FEBS. Lett. -1991.-285.-P. 31-34.
5. Yoshioka K., Fujita A., Condo S. et al.FEBS Lett.-1992.-302.- P. 5-7.
6. Rumlova-Klikova M., Hunter E., Nemut M.V.. J. Virology. -2000. -74.-P.8452-8459
7. Zhou Z., Xiao G. Acta Biochim Biophys Sin. -2013.-45.P.- 465-476.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ТЕЛЯТ НА ВВЕДЕНИЯ ВИРУСА ИРТ С РАЗЛИЧНЫМИ АДЬЮВАНТАМИ

¹П.П. Красочко, ²Н.К. Еремец, ²А.И. Албулов, ²М.А. Фролова,
²Ж.Ю. Мурадян, ²И.В. Бобровская, ¹В.П.Красочко

¹ УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины», Республика Беларусь
e-mail:7696695@gmail.com;

²Всероссийский научно-исследовательский и технологический
институт биологической промышленности, Щелково, Московской обл.
e-mail:vnitibp@mail.ru

Ключевые слова: вирус инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, телята, иммунный ответ, хитозана сукцинат, Монтанид Иза 15, гидроксал, сапонин, эмульсиген.

Аннотация. Приведены результаты сравнительного изучения гуморального иммунного ответа у телят на введения вируса ИРТ с различными адьювантами. Установлено, что использование Монтанида Иза 15 и хитозана сукцината в качестве адьювантов позволяет существенно повысить уровень постакцинальных антител у телят к вирусу ИРТ до $6,0 \log_2$, а с хитозаном 0,5% до $5,33 \log_2$, что свидетельствует об их высоких адьювантных свойствах.

Введение. Специфическая профилактика вирусных инфекций крупного рогатого скота – одна из наиболее эффективных мер борьбы с ними. При конструировании противовирусных и антибак-

териальных вакцин вопрос использования эффективных адъювантов до настоящего времени остается открытым (1).

При конструировании вакцины первостепенную роль играет антиген, его титр должен достигать такого уровня, чтобы организм на его введение реагировал выработкой достаточно напряженного иммунного ответа. После инактивации вируса в большинстве своем такие вакцины дают слабые иммунные реакции, повысить уровень иммунной реакции можно применением адъювантов, которые неспецифически действуя, повышают специфический иммунный ответ на антиген. Однако универсального адъюванта для всех антигенов не существует, эффективно повышающий иммуногенность при использовании одного инфекционного агента адъювант, может быть абсолютно инертным по отношению к другому. Кроме того, большинство из них на месте введения формируют так называемое депо антигена, что способствует повышению реактогенности организма (4).

В литературе широко описаны различные адъюванты, используемые для повышения уровня иммунного ответа на введение вакцин.

Так, при конструировании вакцин наиболее широко используются адъюванты Монтанид Иза 15, эмульсиген, эмульсиген Д, гидроксал 0,6%, гидроксал + сапонин, полиоксидоний. Наряду с широко используемыми адъювантами в последние годы учеными различных стран проводятся исследования по использованию хитозана для этой цели. При этом хитозан используется как в качестве сорбента антигена, так и в качестве стимулятора поствакцинального иммунного ответа (3).

Известно, что хитозан обладает антибактериальными свойствами в отношении многих микроорганизмов – бактерий, вирусов, грибов (в том числе патогенных), а также некоторых штаммов дрожжей, что в сочетании с высокой сорбционной емкостью и низкой токсичностью полимера для организма животных и человека служит основанием для его использования при разработке лечебно-профилактических и дезинфицирующих препаратов. Противомикробный эффект олигомеров хитозана связан со способностью влиять на механизм репродукции.

Хитин - твердый продукт, под кварцевой лампой дает голубую флуоресценцию, нерастворим в воде, в разбавленных кислотах, концентрированных щелочах. Растворим в безводной муравьиной и

78,4-97,2%-фосфорной кислотах, концентрированных растворах солей (LiCNS, CaCl₂ и др.). При действии соляной, серной, и азотной кислот разрушается. При взаимодействии хитина с концентрированными щелочами при высокой температуре происходит его деацетилирование с превращением в хитозан. Хитозан - желтоватая аморфная масса, нерастворим в воде, щелочах; растворим в разбавленных неорганических кислотах. Из этих растворов осаждается щелочью. Отмечено, что наличие водорастворимой олигомерной фракции хитозана в препаратах на его основе стимулирует заживление ран, усиливает противоопухолевое и иммуностимулирующее действие (4).

Целью настоящих исследований явилось сравнительное изучение гуморального иммунного ответа у телят на введения вируса ИРТ и различных адьювантов.

Материалы и методы. Исследования проведены в условиях НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» и ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности».

Для работы использован штамм вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота «КМИЭВ-V123» с инфекционной активностью 6,5 lg ТЦД_{50/мл}, который накапливали на культуре клеток МДБК с использованием роллерного культивирования. Инактивацию вируса проводили с помощью теотропина (1,8,3,6-диэндометилен -1,3,6,8- тетраазациклодекан) в 0,2% концентрации.

На телятах опыт проводили в условиях ОАО «Возрождение» Витебского района. Для исследования было взято 45 телят по 5 голов в группе. Телятам опытной группы 1 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ с иммуностимулятором полиоксидоний (250 мкг) двукратно с интервалом в 21 день в дозе 1,0 мл; животным опытной группы 2 - полиоксидоний (500 мкг) двукратно с интервалом в 21 день в дозе 1,0 мл; телятам опытной группы 3 - гидроокись алюминия 0,6% двукратно с интервалом в 21 день в дозе 1,0 мл; телятам опытной группы 4 - гидроксал 0,6% + сапонин; телятам опытной группы 5 - 10% эмульсигена; телятам опытной группы 6- 15% Монтанида Иза15; телятам опытной группы 7 - 0,5% хитозана сукцината; телятам опытной группы 8 - 0,25% хитозана сукцината; телятам опытной группы 9 - ви-

рус ИРТ без адьюванта; десятая группа - контроль. Кровь у животных брали до иммунизации, через 14 и 45 дней после иммунизации.

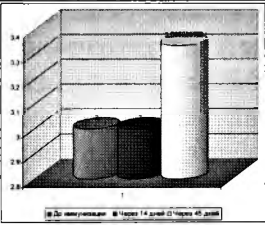
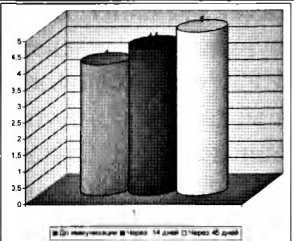
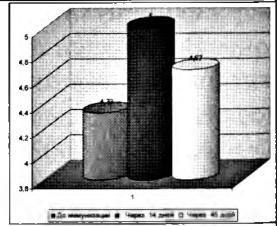
Наличие антител определяли в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с использованием эритроцитарных диагностикумов, представляющих собой стабилизированные 0,2% акролеином или 0,3% глутаровым альдегидом танализированные танином в концентрации 1:20000 – 1:50000 эритроциты крупного рогатого скота, сенсibiliзированные антигенами вируса - инфекционного ринотрахеита с помощью конъюгирующих веществ – 0,1% хлорида хрома с трипановым синим. Диагностикум хранили в консерванте, представляющем собой 0,3% фенолизированный изотонический раствор натрия хлорида с 1% нормальной кроличьей сывороткой в течение 1 года.

РНГА ставили путем разведения исследуемых сывороток крови в растворителе микротитраторе системы Такачи в объеме 0,025 мл в разведениях от 1:2 до 1:256. Растворку сывороток осуществляли в растворителе (он же консервант для хранения диагностикумов). После этого во все лунки добавляли по 0,025 мл жидкого эритроцитарного диагностикума с антигеном вируса ИРТ в 1% концентрации. Панели встряхивали и оставляли при комнатной температуре на 90-120 минут. Положительной считали реакцию при титре исследуемой сыворотки 1:16 и выше при агглютинации жидкого эритроцитарного антигена на 4+ - 2+.

Результаты исследований. Введение телятам инактивированного вируса ИРТ с различными адьювантами не вызывало у них поствакцинальных реакций – не отмечалось угнетения, отказа от корма, припухлости на месте введения.

В таблице и на рисунках 1-9 приведены результаты изучения титров антител вируса ИРТ при использовании различных адьювантов.

**Результаты исследований по сравнению адьювантов при конструировании
инактивированной вакцины против ИРТ**

До иммунизации	Через 14 день	Через 45 дней
1-е взятие крови (перед иммунизацией)	2-е взятие крови (вторая иммунизация)	3-е взятие крови (14 дней после второй иммунизации)
Опытная группа 1 полиоксидоний 250 мкг		
3±0	3,6±0,33	3,6±0,33
Опытная группа 2 полиоксидоний 500 мкг		
4,33±0,33	5±0,58	4,67±0,67
Опытная группа 3 гидроксал 0,6%		
3,67±0,33	4,33±0,33	5±1,00
Опытная группа 4 гидроксал + сапонин		
3,33±0,33	4,33±0,67	4,67±0,88
Опытная группа 5 10% эмульсиген		
3,5±0,29	4,25±0,25	4,5±0,5
Опытная группа 6 Иза15		
3,75±0,48	4,5±0,5	6±0,41
Опытная группа 7 хитозана сукцинат 0,5%		
3,33±0,33	3,67±0,33	5,33±0,33
Опытная группа 8 хитозана сукцинат 0,25%		
3±0	4,67±0,33	4,33±0,67
Опытная группа 9 вирус ИРТ без адьюванта		
4±0,41	4,5±0,50	5±0
Контроль		
3±0,57	3±0	3,3±0,33
		
Рис.1. Результаты антителообразования против ИРТ у телят контрольной группы.	Рис.2. Результаты антителообразования у телят, обработанных вирусом ИРТ без адьювантов.	Рис.3. Результаты антителообразования у телят, обработанных вирусом ИРТ с полиоксидонием (500 мкг/гол).

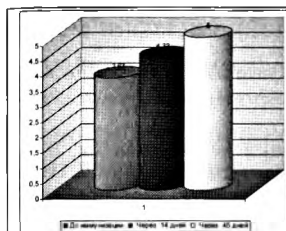


Рис.4. Результаты антителообразования у телят, обработанных вирусом ИРТ с гидроксалом 0,6%.

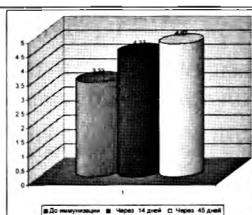


Рис. 5. Результаты антителообразования у телят, обработанных вирусом ИРТ с гидроксалом 0,6% и сапонином.

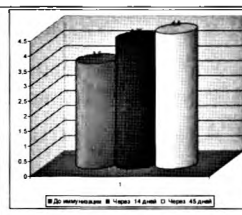


Рис.6. Результаты антителообразования у телят, обработанных вирусом ИРТ с 10%эмульсигена.

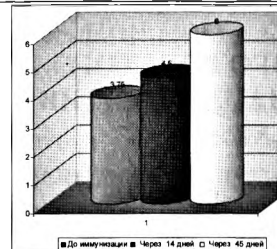


Рис. 7. Результаты антителообразования у телят, обработанных вирусом ИРТ с 15% Иза15.

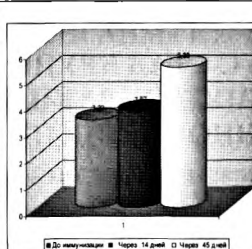


Рис. 8. Результаты антителообразования у телят, обработанных вирусом ИРТ с 0,5% хитозана сукцината.

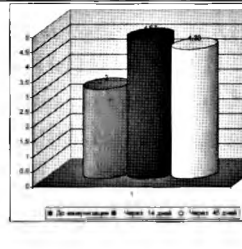


Рис. 9. Результаты антителообразования у телят, обработанных вирусом ИРТ с 0,25% хитозана сукцината.

Из таблицы и рисунков видно, что наиболее эффективными адьювантами для телят являются хитозана сукцинат и Иза-15 после двукратного введения с интервалом в 21 день, что позволило повысить уровень поствакцинальных антител к вирусу ИРТ до 5, 33 \log_2 . Высокий уровень антител был определен при использовании гидроксала (0,6% - до 5,0 \log_2).

Однако использование гидроксала с сапонином, полиоксидонием (500 мкг) и 10% эмульсигеном позволило повысить уровень антител только до 4,67 \log_2 , -4,5 соответственно, а с полиоксидонием (250 мкг/гол.) - до 3,6 \log_2 .

Таким образом, использование монтанида ИЗА 15 и хитозана сукцината в качестве адьювантов существенно повысило уровень постакцинальных антител у телят к вирусу ИРТ до 6,0 \log_2 , с помощью 0,5% хитозана до 5,33 \log_2 ; гидроксала - до 5,0 \log_2 , что позволяет рекомендовать их в качестве адьювантов при производстве вакцинных препаратов.

Литература

1. Болезни сельскохозяйственных животных // П.А.Красочко, М.В.Якубовский, А.И.Ятусевич, Ю.Г.Зелютков и др./ Под ред. П.А. Красочко – Минск: Бизнесофсет, 2005. – 800 с.
2. Зелютков Ю.Г. Инфекционные энтериты новорожденных телят - Витебск, 2006. – 190 с.
3. Хитин и Хитозан. Получение, свойство и применение / Под ред. К.Г. Скрыбина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002 – 364 с.
4. Староверов С.А., Семенов СВ., Сидоркин В.А. Адьювантные свойства водно-дисперсных растворов неионогенных поверхностно активных веществ и витаминов // Ветеринария. - 2003. - №10. - С.30-31.

ИММУННЫЙ СТАТУС СТАД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, НЕ ПОДВЕРГНУТЫХ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА

П.П. Красочко

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины», Республика Беларусь
e-mail:7696695@gmail.com

Ключевые слова: серологический мониторинг, животные, сыворотки крови, вирусы, инфекционный ринотрахеит, реакция прямой гемагглютинации, антитела.

Аннотация. Приведены результаты иммунного статуса стад крупного рогатого скота, не подвергнутых вакцинации против инфекционного ринотрахеита. Установлено, что в хозяйствах, не проводящих специфическую профилактику инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, отмечается циркуляция вируса в стаде во всех физиологических группах. При этом в летне-осенний период интенсивность циркуляции низкая, что отражается на наличии антител у коров в невысоких титрах, но к 6-месячному возрасту телята в таких хозяйствах переболевают инфекционным ринотрахеитом.

Введение. В настоящее время разработано большое количество биопрепаратов для профилактики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, а также схем вакцинации с учетом половозрастной группы. Поэтому контроль за болезнью не представляется затруднительным. В связи со значительным распространением