

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ИНТЕРФЕРОНА И ИНТЕРФЕРОНОГЕНОВ НА РЕПРОДУКЦИЮ ВИРУСА ТРАНСМИССИВНОГО ГАСТРОЭНТЕРИТА СВИНЕЙ

П.А. Красочко, А.С. Ястребов, Д.С.Борисовец
*РУП "Институт экспериментальной ветеринарии
им. С.Н. Вышелесского",
г. Минск, Республика Беларусь*

Введение

В настоящее время существенной проблемой свиноводческих комплексов является высокий удельный вес желудочно-кишечных и респираторных болезней молодняка свиней в ранний постнатальный период, которые в большинстве случаев протекают как смешанные вирусно-бактериальные инфекции на фоне ослабления иммунной системы животных.

Профилактика и терапия указанных инфекций требует применения новых эффективных комплексных препаратов, обладающих выраженным противовирусным и иммуномодулирующим эффектом. К таким препаратам относятся препараты группы интерферона, которым в последнее время уделяется существенное внимание. Препараты экзогенного интерферона оказывают противовирусное действие, индуцируя в клетках состояние резистентности к вирусным инфекциям, модулируют ответную реакцию иммунной системы, направленную на нейтрализацию вирусов и уничтожение инфицированных им клеток. Однако обладают рядом недостатков, к которым относятся короткий период их полураспада в организме, трудности производства и очистки, эффективность лишь на ранних стадиях инфекции.

Большие надежды в борьбе с вирусными инфекциями связывают с индукторами эндогенного интерферона на основе дсРНК, основные противовирусные эффекты которых реализуются даже при очень низких концентрациях как на молекулярном, так и на клеточном и органном уровнях.

Тем не менее, ни один иммуномодулятор не может оказаться универсальным средством терапии вирусных инфекций, но правильно подобранным сочетаниям указанных препаратов, по-видимому, принадлежит будущее в иммунотерапии инфекционных заболеваний.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния комплексного биологического препарата на основе интерферона и интерфероногенов на репродукцию вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС) в перевиваемой культуре клеток.

Материалы и методы

Для конструирования образцов комплексного биологического препарата (КБП) использовали: интерферон свиной рекомбинантный, производства ООО "Научно-производственный центр БелАгроГен" (Республика Беларусь, г. Горки), индуктор интерферона пролонгированного действия "Провест", производства ООО "Диафарм" (РФ) и иммуностимулятор "Альвеозан", производства РУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского".

Изготавливали два лабораторных образца препарата: первый - с интерфероном свиным рекомбинантным и альвеозаном; второй - с индуктором интерферона "Провест" и альвеозаном в соотношении 1:1.

Для исследования использовали штамм вируса ТГС "КМИЭВ-10", взятый из коллекции штаммов микроорганизмов РУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского". В качестве тест-системы использовали перевиваемую культуру клеток почки эмбриона свиньи СПЭВ. Штамм вируса ТГС накапливали на культуре клеток СПЭВ путем проведения 3-х последовательных пассажей, инфекционный титр вируса после 3-го пассажа составлял $8,0 \lg \text{TCID}_{50}/\text{см}^3$.

Для проведения исследований использовали 96-луночные полистироловые культуральные планшеты с 2-3-х суточной культурой клеток СПЭВ. Проводили двукратные разведения образцов сконструированного комплексного биологического от 1:10 до 1:51200, которые вносили по 100 мкл, предварительно удаляя ростовую среду и заменяли ее на поддерживающую. Контакт образцов препарата с клеточным монослоем проводили при 37 °С в течение 6, 24, 48 и 72 часов, после чего вносили вирус ТГС в дозе $100 \text{TCID}_{50}/0,1 \text{ см}^3$ в количестве

Таблица 1. Антивирусная активность комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона и иммуностимулятора в системе *in vitro*

Разведения препарата	Кол-во лунок	Учет результатов (ЦПД вируса), часы			
		6	24	48	72
1:10	4	4/0	4/0	4/0	4/4
1:100	4	4/0	4/0	4/0	4/4
1:200	4	4/0	4/0	4/0	4/4
1:400	4	4/0	4/0	4/0	4/4
1:800	4	4/0	4/0	4/0	4/4
1:1600	4	4/0	4/0	4/4	4/4
1:3200	4	4/4	4/0	4/4	4/4
1:6400	4	4/4	4/0	4/4	4/4
1:12800	4	4/4	4/0	4/4	4/4
1:25600	4	4/4	4/0	4/4	4/4
1:51200	4	4/4	4/4	4/4	4/4
Контроль клеток	4	4/0	4/0	4/0	4/0
Контроль вируса	4	4/4	4/4	4/4	4/4

Примечание: 4/4 - в числителе - количество лунок с культурой клеток в опыте, в знаменателе - количество лунок, где вирус проявил ЦПД.

100 мкл. Результаты исследований учитывали по проявлению цитопатического действия (ЦПД) вируса ТГС на культуре клеток СПЭВ путем микроскопии через 24, 48, 72 и 96 часов. Торможение репродукции вируса ТГС на культуре клеток в виде цитопатогенного действия свидетельствует о том, что комплексный биологический препарат обладает антивирусным действием.

Результаты исследований.

Результаты исследований по изучению антивирусной активности комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона, индуктора интерферона и иммуностимулятора с использованием вируса ТГС приведены в табл. 1 и 2.

Из таблицы 1 видно, что образец комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона и иммуностимулятора в системе *in vitro* задерживает репродукцию вируса ТГС на культуре клеток СПЭВ, которая проявляется отсутствием ЦПД вируса в культуре клеток через 6 часов в разведении 1:1600, через 24 часа - 1:25600, 48 часов - 1:800.

По результатам проведенных исследований (таблиц 2) установлено, что образец комплексного биологического препарата на основе индуктора интерферона "Провест" и иммуностимулятора "Альвеозан" задерживает репродукцию вируса ТГС через 24 часа в разведении 1:200, через 48 часов - в разведении от 1:10 до 1:51200, 72 часа - 1:6400, через 7 дней антивирусная активность указанного образца КБП не прослеживается.

Таблица 2 - Антивирусная активность комплексного биологического препарата на основе индуктора интерферона "Провест" и иммуностимулятора в системе *in vitro*

Разведения препарата	Кол-во лунок	Учет результатов (ЦПД вируса), часы			
		6	24	48	72
1:10	4	4/4	4/0	4/0	4/0
1:100	4	4/4	4/0	4/0	4/0
1:200	4	4/4	4/0	4/0	4/0
1:400	4	4/4	4/4	4/0	4/0
1:800	4	4/4	4/4	4/0	4/0
1:1600	4	4/4	4/4	4/0	4/0
1:3200	4	4/4	4/4	4/0	4/0
1:6400	4	4/4	4/4	4/0	4/0
1:12800	4	4/4	4/4	4/0	4/4
1:25600	4	4/4	4/4	4/0	4/4
1:51200	4	4/4	4/4	4/0	4/4
Контроль клеток	4	4/0	4/0	4/0	4/0
Контроль вируса	4	4/4	4/4	4/4	4/4

Примечание: 4/4 - в числителе - количество лунок с культурой клеток в опыте, в знаменателе - количество лунок, где вирус проявил ЦПД.

Заключение

Сравнив полученные данные необходимо отметить, что образец препарата на основе индуктора интерферона и иммуностимулятора имел более выраженный защитный эффект, который, однако, проявлялся на 24 часа позднее в сравнении с препаратом на основе экзогенного рекомбинантного интерферона. Таким образом, разработанные образцы комплексного биологического препарата на основе свиного рекомбинантного интерферона, индуктора интерферона "Провест" и альвеозана обладают выраженной противовирусной активностью *in vitro* и способны подавлять репродукцию вируса ТГС на культуре клеток СПЭВ.

Summary

Studying of the influence of complex biological preparation based on interferon and interferon inducers on porcine transmissible gastroenteritis virus reproduction *in vitro* with use of SPEV culture cells was conducted. It was established that developed complex biological preparations demonstrate the antiviral activity at SPEV culture cells after their inoculation with TGE virus under the experimental conditions and suppressed viral replication. Antiviral activity of the sample of preparation based on swine recombinant interferon was appeared 6 hours after its inoculation into the cell culture and lasting for 48 hours, antiviral activity of interferon inducer preparation sample was appeared 24-48 hours after its inoculation into the cell culture and lasting for 72 hours.

УДК 619:616.98:579.852.13(06)

ДИНАМИКА КЛЕТОЧНОГО, ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И РЕЗИСТЕНТНОСТИ КОРОВ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ИХ ВАКЦИНОЙ "НЕКОВАК" В СОЧЕТАНИИ С ГЛИКОПИНОМ

О.Д. Кучерук, Г.И. Устинова

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии имени Я.П. Коваленко
Россельхозакадемии, г. Москва*

Некробактериоз крупного рогатого скота в настоящее время наносит значительный урон сельскому хозяйству, способствуя снижению молочной и мясной продуктивности животных, приводя к длительному их лечению, а в тяжелых случаях и гибели.

Многие ученые указывали на снижение общей резистентности макроорганизма, как основное условие возникновения данной бо-