

2001 года. – Витебск, 2001. – С. 160–161. 2. Лях, Ю.Г. Причина возникновения инфекционных ассоциаций в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь / Ю.Г. Лях, М.М. Бушило, Л.Н. Прибыш // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных : материалы международной научно-практической конференции / науч. ред. Н.Н. Андросик. – Минск : Хата, 2000. – 596 с. 3. Лях, Ю.Г. Сочетанное проявление и специфическая профилактика легочного пастереллеза и гемофильного полисерозита свиней / Ю.Г. Лях, Г.Е. Толяронок // Ученые записки / УО ВГАВМ. – Витебск, 1999. – Т. 35, ч. 1. – С. 90–91. 4. Лях, Ю.Г. Сравнительная оценка использования различных адьювантов при конструировании ассоциированной вакцины / Ю.Г. Лях, Г.Е. Толяронок, Л.Д. Андросик // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных : материалы международной научно-практической конференции. – Минск : Хата, 2000. – С. 298–300. 5. Палунина, В.В. Носительство микроорганизмов в носовой полости у поросят / В.В. Палунина // Ветеринария. – 2004. – №7. – С. 29–30. 6. Пастереллез свиней и его профилактика в Беларуси / Ю.Г. Лях [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных : материалы Международной научно-практической конференции (Москва, 16-17 мая, 2006г.) – Москва: ИзографЪ, – 2006. – С. 90-93. 7. Прудников, В.С. Роль патоморфологических исследований в диагностике инфекционных болезней животных при ассоциативном течении / В.С. Прудников // Учебные Записки / УО ВГАВМ. – Витебск, 2005г. – Т. 41, вып. 2, ч. 1. – С. 46–47. 8. Турдиев, Ш.А. Возможность применения комплексной иммунизации против бруцеллеза, сальмонеллеза и пастереллеза в экспериментальных условиях / Ш.А. Турдиев, У.А. Абдуллоев, К.У. Идиев // Ветеринарная патология. – 2003. - № 2. – С. 53–54.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:616.98:578.825.1:615.37-084

ПРИМЕНЕНИЕ РОНКОЛЕЙКИНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИММУНОДЕФИЦИТОВ У СВИНОМАТОК ПРИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Конотоп Д.С.

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

Применение ронколейкина в качестве иммунокорректора позволяет нормализовать функцию иммунной системы у свиноматок, независимо от их физиологического состояния и профилактировать развитие латентно протекающей герпесвирусной инфекции.

The application of roncoleukin allows to normalize function of immune system at sows, irrespective of their physiological condition and preventive development of latent proceeding of herpesvirus infection.

Введение. Герпесвирусные инфекции - группа антропозоонозных вирусных инфекционных болезней, которые вызываются вирусами из семейства Herpesviridae, могут протекать в виде локализованных, генерализованных, рецидивирующих форм болезни, имеют способность к персистенции. Характеризуется поражениями кожи и слизистых оболочек, а также ЦНС, глаз, внутренних органов. Герпетические инфекции у беременных относятся к числу самых распространенных заболеваний, определяющих внутриутробное инфицирование, эмбрио- и фетопатии, акушерскую и гинекологическую патологию (эндометриты, сальпингоофориты, цервициты, эрозии шейки матки и др.) [3,4].

Уникальной способностью герпесвирусов является их способность блокировать защитные механизмы иммунной системы организма. При этом герпесвирусы способствуют развитию условно-патогенной микрофлоры и переходу их в патогенное состояние. Клинические проявления герпесвирусной инфекции отмечены у животных с иммунной недостаточностью. Поэтому одним из способов профилактики развития герпесвирусов в организме является использование препаратов, регулирующих функцию иммунной системы.

Ронколейкин® - структурный и функциональный аналог эндогенного интерлейкина-2 (ИЛ-2). Он обладает выраженной иммунокорригирующей активностью, направленной на усиление и оптимизацию противобактериального, противовирусного и противогрибкового иммунитета. Ронколейкин® восстанавливает синтез эндогенного ИЛ-2 активированными Т-хелперами и Т-супрессорами, компенсирует дефицит эндогенного ИЛ-2; предохраняет активированные Т-клетки от поврежденной гибели, влияет как на клеточное, так и на гуморальное звено иммунитета. [2,5,6,7,8].

Интерлейкин -2 впервые был описан как цитокин, способный поддерживать пролиферацию Т-лимфоцитов *in vitro*. Обладая относительно узким спектром мишеней, несущих рецептор для IL-2 на своей поверхности, IL-2 способен поддерживать пролиферацию Th1, NK, CTL и В-лимфоцитов. Недавние исследования показали, что в организме IL-2 является незаменимым ростовым фактором для субпопуляции регуляторных супрессорных Т-лимфоцитов. Нормальная функциональная активность которых обеспечивает защиту от развития аутоиммунных и аллергических иммунных реакций. Th1 способны продуцировать существенные количества IL-2, который действует паракринно, активизирует моноциты, на которых после воздействия гамма-интерферона начинают экспрессировать рецептор к IL-2. связывание интерлейкина 2 со своими рецепторами на моноцитах приводит к активации цитотоксических свойств этих клеток, усилению генерации активных форм кислорода и перекисей, что обеспечивает прямое разрушение крупных вирусных частиц ВПГ. [1,9,10,11]

Материалы и методы исследования. Работа выполнялась в условиях НИИ ПВМ и Б, кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО «ВГАВМ», РУСП СГЦ «Заднепровский».

С учетом физиологического состояния и функционального состояния иммунной системы препарат вводили животным различных половозрастных групп. Было поставлено 3 опыта по следующей схеме:

1. Введение ронколейкина свиноматкам в 1-3 день подсосного периода (профилактика синдрома ММА у свиноматок, профилактика иммунодефицита у подсосных поросят и т.д.)

2. Введение ронколейкина свиноматкам сразу после отъема, перед искусственным осеменением (профилактика прохолостов инфекционной этиологии, при осеменении спермой, возможно контаминированной герпесвирусами, вирусами парвовирусной болезни, РРСС и др.)

3. Введение ронколейкина свиноматкам на 32-35 день супоросности (профилактика внутриутробного заражения плодов парвовирусом, стимуляция поствакцинального иммунитета против основных болезней и др.)

Подопытные животные заранее исследовались серологически на наличие иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 1,2 типов. Для опыта подбирались серопозитивные и серонегативные животные. Дополнительно у свиноматок определяли процентное соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов и их соотношение в реакции розеткообразования с эритроцитами барана при инкубировании при различных температурных режимах. У большинства свиноматок различных половозрастных групп отмечалось нарушение соотношения Т-хелперов / Т-супрессоров, что свидетельствует о наличии у них дисфункции иммунной системы.

Для исследования в каждом опыте было сформировано по 4 группы животных (3 группы свиноматок-опытные, одна-контрольная) по 4 головы в каждой.

Свиноматкам опытных групп ронколейкин вводили в дозах 2 мл, 1,5мл, 1,0 мл что соответствует дозе 400000ЕД, 300000 ЕД, 200000 ЕД на 1 голову. Препарат вводили подкожно, у основания уха, с соблюдением правил асептики и антисептики.

Животным контрольной группы никаких препаратов не вводили. Животных подбирали по принципу аналогов, условия кормления и содержания достоверно не отличались. Все свиноматки содержались в условиях промышленного комплекса по выращиванию свинины, по общепринятой технологии для предприятий такого типа технологии.

У всех животных проводили биохимические и гематологические исследования крови, проводили учет воспроизводительных качеств зоотехнических данных по каждой группе свиноматок. Пробы крови отбирали из орбитального венозного, за 2-3 часа до кормления, используя иглы диаметром 1,2-2,0 мм и длиной 5-7 см синуса с соблюдением правил асептики и антисептики.

При проведении биохимических исследований в пробах сыворотки крови определяли следующие показатели: общий белок, альбумины, мочевины, глюкоза, холестерин, триглицериды, креатинин, кальций, фосфор, магний, железо, щелочная фосфатаза, АлАт, АсАт, кальций-фосфорное соотношение.

Для проведения гематологических исследований пробы крови отбирали в стерильные пробирки с антикоагулянтом. Определение основных показателей проводили с помощью автоматического гематологического анализатора «Medonic». Пробы исследовали по следующим показателям: абсолютное и относительное количество лейкоцитов, лимфоцитов и гранулоцитов, содержания гемоглобина, гематокрит и т.д.

При оценке воспроизводительных качеств учитывали следующие показатели: средний вес гнезда при рождении, крупноплодность, количество поросят в гнезде, наличие слабых, мертворожденных поросят, молочность, средний вес гнезда при отъеме, среднесуточный прирост и т.д.

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке на персональном компьютере при помощи программы Microsoft Excel.

Результаты исследования. На первом этапе с целью исключения нарушений обмена веществ у подопытных свиноматок отбирали пробы крови для биохимического исследования. (Табл.1)

Таблица 1 – Биохимические показатели свиноматок

Показатели	Супоросные свиноматки	Подсосные свиноматки	Супоросные норма	Подсосные норма
Общий белок, г/л	79,04±3,96	76,74±6,63	65-75	60-72
Альбумины, г/л	41,52±1,13	45,39±2,3	30-45	30-42
Мочевина, ммоль/л	5±1,28	4,6±1,45	2,2-4,0	2-3,5
Глюкоза, * ммоль/л	4,39±0,65	5,47±0,56	4,2-5,2	3,6-4,6
Холестерин, * ммоль/л	1,85±0,26	1,34±0,41	1,8-3,4	2,-3,8
Триглицериды * ммоль/л	0,41±0,08	0,22±0,09	0,5-1	0,3-1
Креатинин, мкмоль/л	203,15±36,24	233,61±51,74	50-90	60-110
Кальций, ммоль/л	3,07±0,17	3,04±0,57	2,1-3,1	2-3,5
Фосфор, ммоль/л	1,66±0,56	1,94±0,44	1,5-2,7	1,5-2,5
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	70±20,3	47,8±16,08	42-84	56-112
АлАт, МЕ/л	47±5	36,15±9,35	24-48	30-56
Ca/P	2,04±0,7	1,67±0,56	1,5-2	1,6-2

Анализируя биохимические показатели в исследуемых пробах крови, можно отметить, что в целом, грубых нарушений обмена веществ не выявлено. Отмечается повышенное содержание мочевины и креатинина, что свидетельствует об определенных нарушениях углеводного обмена.

Это может быть вызвано наличием в организме хронических воспалительных процессов, нарушением функции почек, повышенным содержанием в скармливаемых кормах белка и/или антибактериальных препаратов.

На втором этапе отбирали пробы крови для гематологического исследования. В связи с тем, что ронколейкин в первую очередь действует на Т-клеточное звено иммунитета, в первую очередь анализировали изменения уровня лимфоцитов.

При анализе абсолютного и относительного количества лимфоцитов у подсосных свиноматок отмечается следующая тенденция. В период подсоса количество лимфоцитов у свиноматок колебалось незначительно, не отмечалось резкого снижения данной популяции иммунокомпетентных клеток. Это позволяет судить о том, что у данной группы животных нет ярко выраженной иммуносупрессии, обусловленной предыдущей беременностью. Применение Ронколейкина в терапевтических дозах вызывает увеличение количества лимфоцитов, что свидетельствует о активации иммунной системы свиноматки. Вследствии чего происходит усиление колострального иммунитета, что обеспечивает защиту поросят в подсосный период. (Рис. 1,2.)

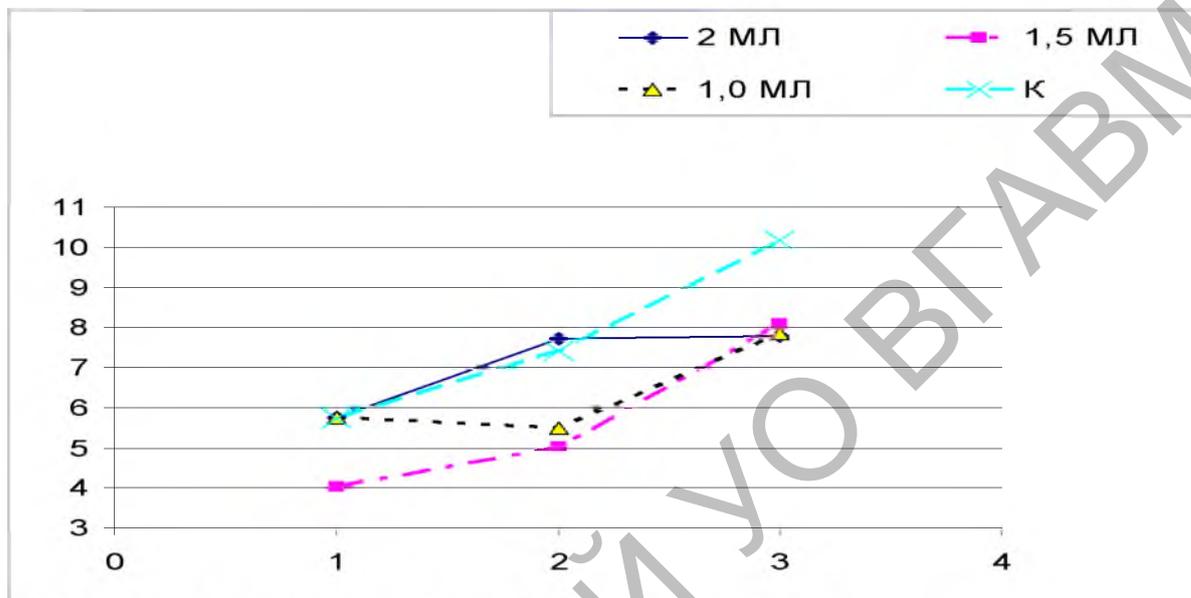


Рисунок 1 - Динамика уровня лимфоцитов у подсосных свиноматок

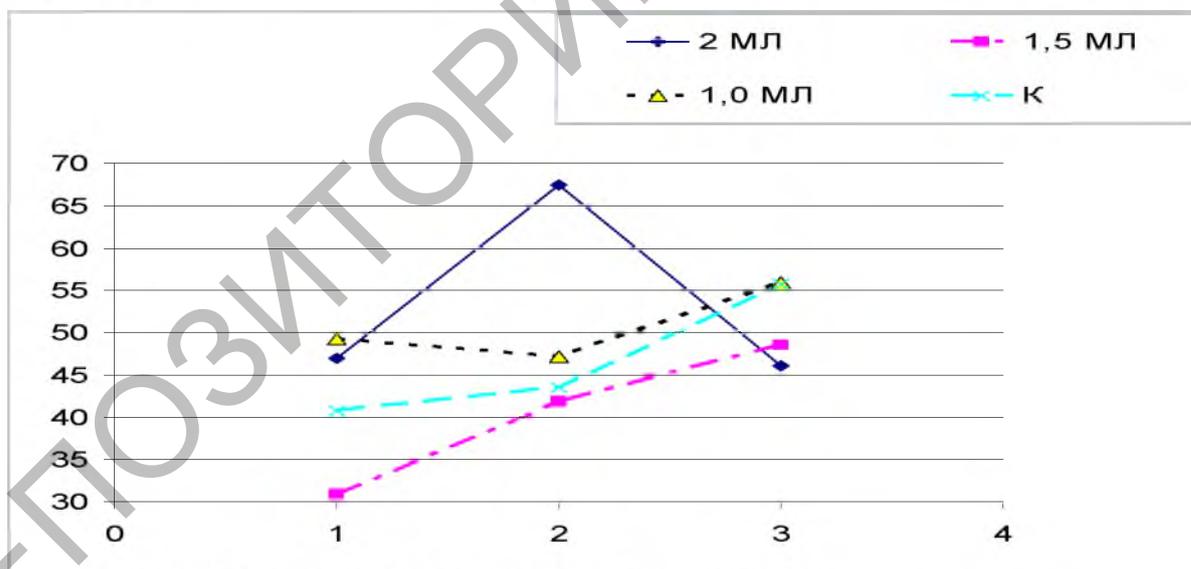


Рисунок 2 - Динамика уровня процента лимфоцитов у подсосных свиноматок

У свиноматок после отъема процент лимфоцитов во всех группах достоверно не колебался, у всех животных наблюдалась одинаковая динамика подъема. Это свидетельствует о физиологическом восстановлении иммунной системы до нормального уровня, после иммуносупрессии, вызванной предыдущей беременностью. Введение же Ронколейкина даже в дозах, ниже терапевтической, вызывает увеличение процента иммунокомпетентных клеток по сравнению с контрольной группой. При усилении иммунного статуса животного организм становится более устойчивым к возможному заражению различными микроорганизмами при искусственном осеменении (Рис.3,4)

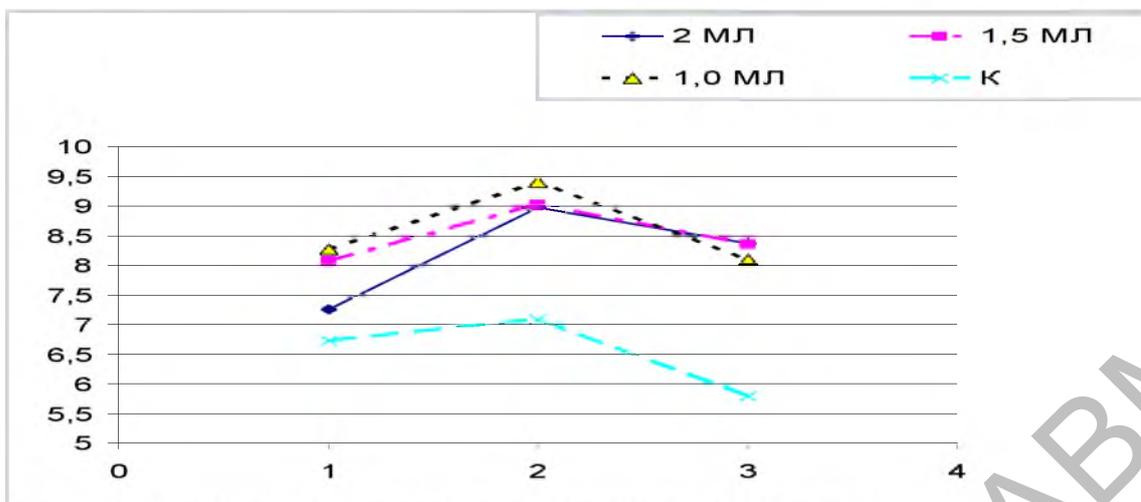


Рисунок 3 - Динамика уровня лимфоцитов у свиноматок после отъема

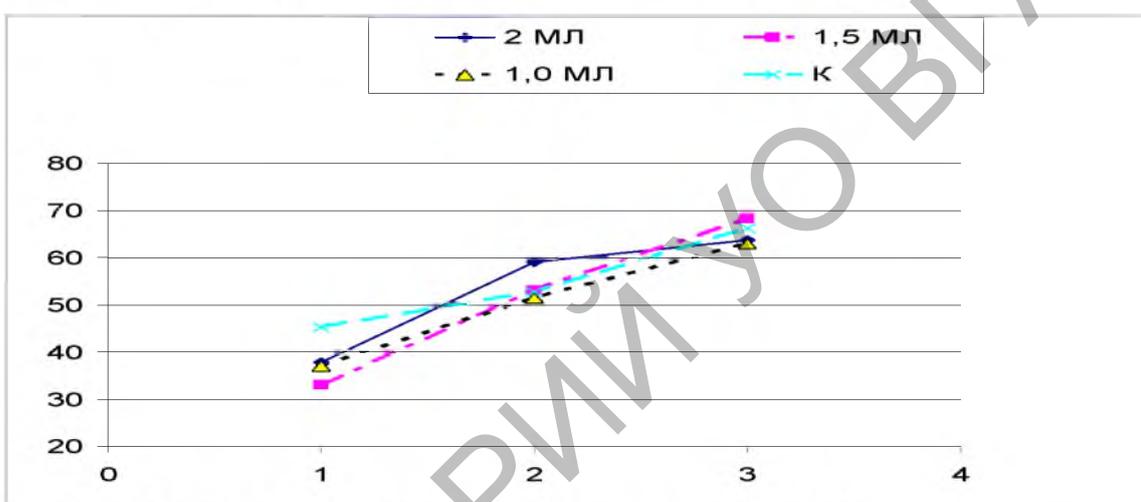


Рисунок 4 - Динамика уровня процента лимфоцитов у свиноматок после отъема

При применении Ронколейкина супоросным свиноматкам достоверной динамики изменений абсолютного количества лимфоцитов не отмечалось. (Рис.5,6)

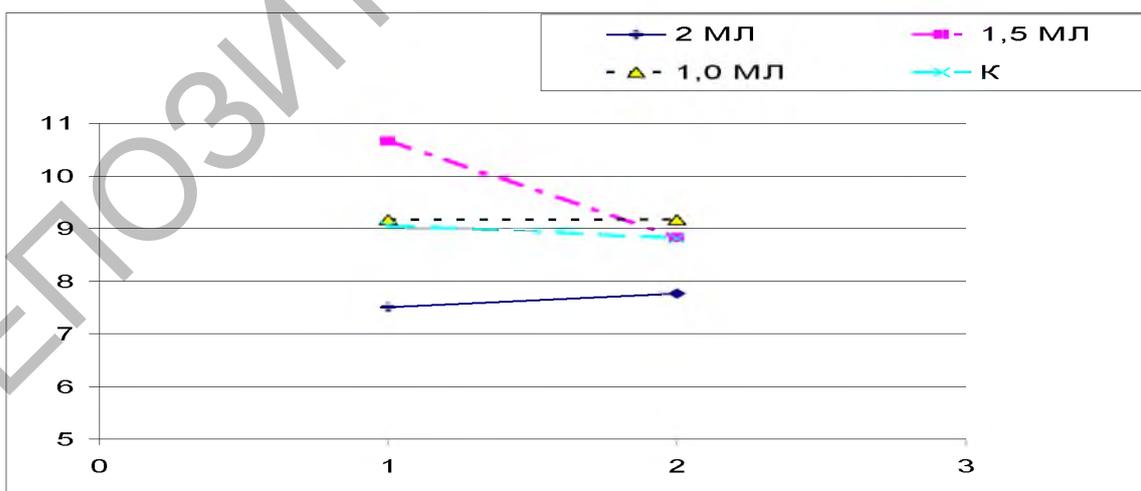


Рисунок 5 - Динамика уровня лимфоцитов у супоросных свиноматок

Анализируя процент лимфоцитов можно заметить, что применение Ронколейкина в терапевтической дозе вызывает положительный сдвиг в иммунной системе. Но с учетом физиологического состояния, он может быть неадекватным и не защищать от заболеваний инфекционной этиологии. Одним из фактором, напрямую влияющим на это, является индивидуальная резистентность животного.

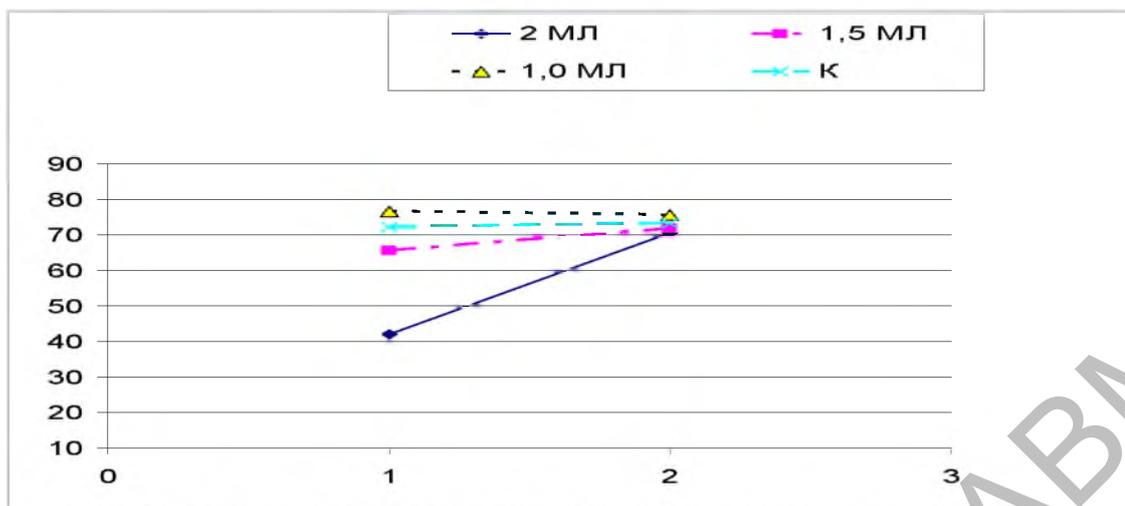


Рисунок 6 - Динамика уровня процента лимфоцитов у супоросных свиноматок

В целом, можно отметить, что независимо от физиологического состояния свиноматок, при введении Ронколейкина в терапевтической дозе, во всех случаях отмечается положительная реакция со стороны иммунной системы, особенно в течении 14-21 дня после введения. Дозы меньше рекомендуемой терапевтической, влияют на иммунный статус, но не достоверно. Положительный эффект отмечался у некоторых свиноматок, индивидуально, вероятнее всего ввиду высокого уровня естественной резистентности.

На третьем этапе для учета воспроизводительных качеств свиноматок опытных и контрольных групп проводили анализ зоотехнических данных по каждой группе свиноматок. Учитывали следующие показатели: средний вес гнезда при рождении, крупноплодность, количество поросят в гнезде, наличие слабых, мертворожденных поросят, молочность, средний вес гнезда при отъеме, среднесуточный прирост и т.д.

При применении Ронколейкина подсосным свиноматкам отмечается увеличение **крупноплодности** поросят в последующий опорос, в контрольной группе данной картины не наблюдается. (рис 7,8,9,10)

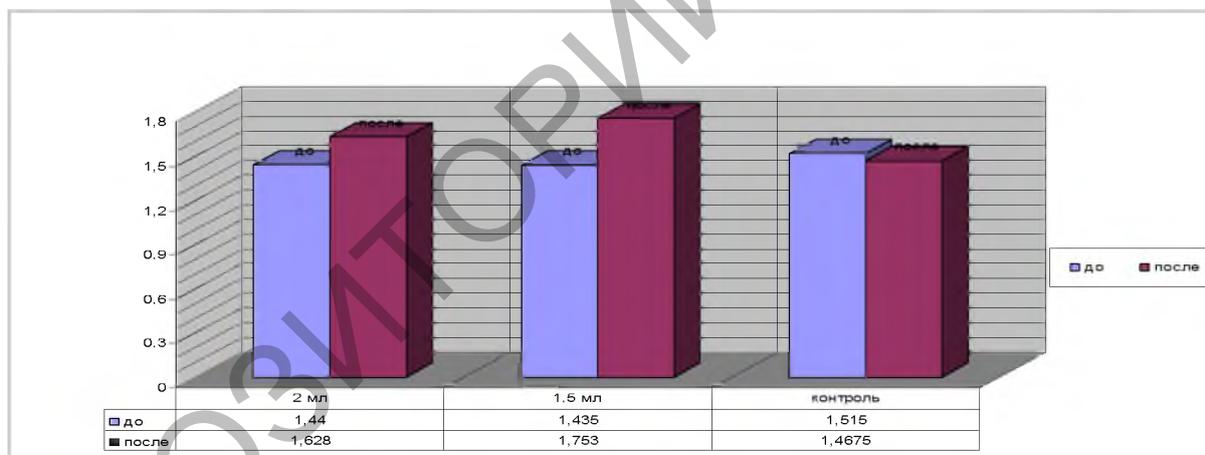


Рисунок 7 - Крупноплодность поросят полученных от подсосных свиноматок, обработанных ронколейкином

При применении Ронколейкина свиноматкам перед осеменением достоверного влияния препарата на крупноплодность не отмечалось. Использование препарата в группе супоросных свиноматок оказывает эффект только в терапевтических дозах, что можно объяснить выраженной при беременности иммуносупрессией. (Рис. 8,9,10)

Особый интерес вызывает **сохранность** свиноматок. В группе подсосных свиноматок процент произвольного выбытия, при введении дозы Ронколейкина 1,0 мл, составил 75%. В группе супоросных свиноматок похожая картина, процент выбытия при введении препарата в дозах 1,5 и 1 мл составил соответственно 50-75%. На наш взгляд, применение Ронколейкина у свиноматок этих половозрастных групп в дозе, меньше терапевтической, вызывает неполноценный иммунный ответ, что приводит к ослаблению функции иммунной системы и обострению латентно протекающих заболеваний. С учетом состояния иммунодепрессии, обусловленной беременностью, на фоне снижения естественной резистентности, происходит развитие гипоагалактии или произвольное выбытие свиноматки.

Данная картина не наблюдается только при введении Ронколейкина свиноматкам в послеотъемный период, когда иммунная система свиноматок полностью восстанавливается и иммунный ответ на внедрение любого чужеродного антигена полноценный.

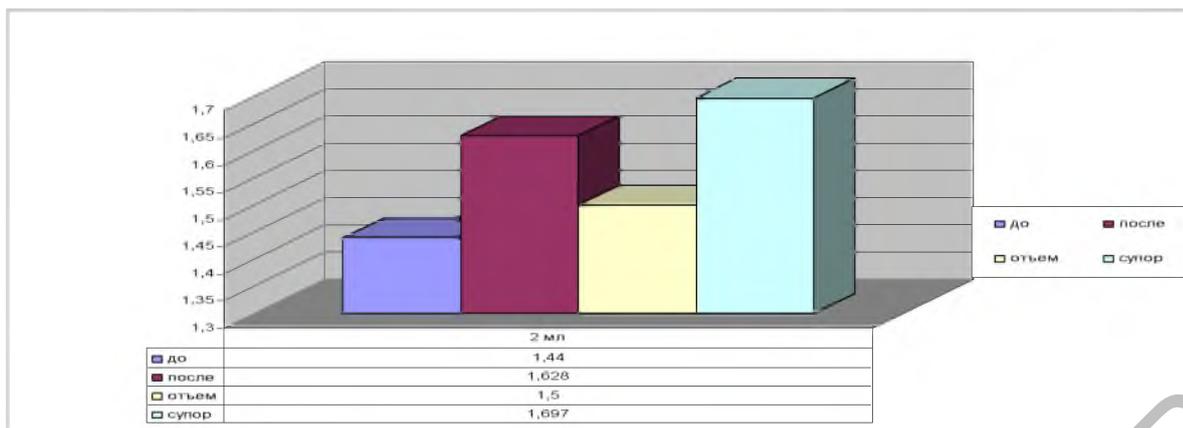


Рисунок 8 - Крупноплодность поросят при применении терапевтической дозы

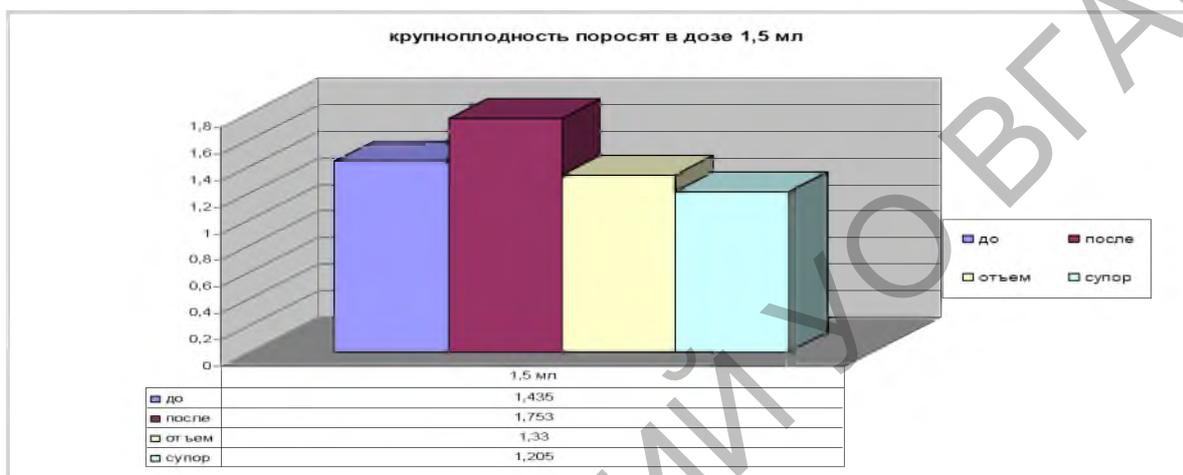


Рисунок 9 - Крупноплодность поросят в дозе 1,5 мл

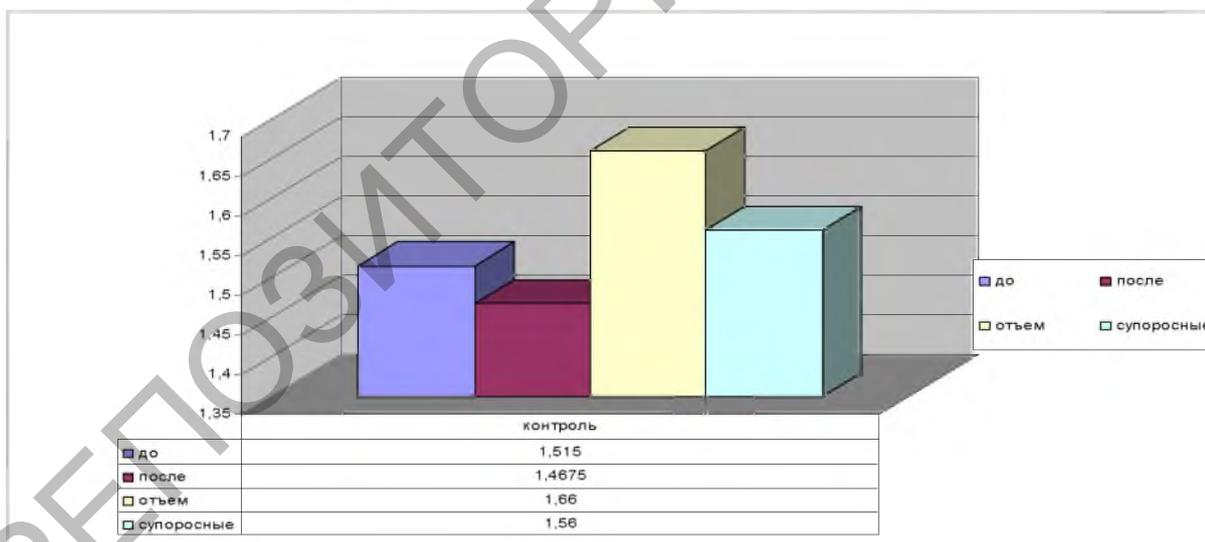


Рисунок 10 - Крупноплодность поросят в контрольной группе

Анализируя процент **слабых и мертворожденных** поросят можно отметить следующее. При использовании Ронколейкина в подсосный период, процент слабых и мертворожденных поросят в опытной и контрольных группах за 2 опороса достоверно не отличался. Однако процент мертворожденных поросят в контрольной группе на втором опоросе был выше (7,32%), чем в опытной группе (4,44%), где применяли препарат в терапевтической дозе.

У свиноматок, которым препарат вводили перед осеменением не отмечалось достоверных различий в количестве слабых и мертворожденных. При применении Ронколейкина супоросным свиноматкам отмечалось наличие мертворожденных поросят даже в группах, получавших препарат в терапевтической дозе, и составило 11,43%.

Во всех половозрастных группах отмечено увеличение количества слабых поросят. Вероятнее всего, на фоне снижения иммунитета и естественной резистентности происходит раннее инфицирование эмбрионов и при

попадании возбудителей в плод происходят необратимые органические изменения в органах и тканях плода. Введение в этот период Ронколейкина уже не оказывает существенного эффекта, ввиду развития органических изменений и может лишь приостановит патологический процесс, что и отражается в рождении слабых поросят.

Заключение. Приведенные исследования подтверждают обоснованность применения ронколейкина для профилактики герпесвирусной инфекции у свиноматок, независимо от стадии проявления инфекции и наличия дисфункции иммунной системы.

1. Наиболее оптимальным является введение Ронколейкина свиноматкам в послеплодный период. В это время в организме функция иммунной системы полностью восстанавливается после иммуносупрессии, вызванной беременностью, иммунокорректирующий эффект препарата максимальный.

2. Применение Ронколейкина свиноматкам в подсосный период способствует получению в последующий опорос более крупноплодных поросят, однако эффект напрямую зависит от естественной резистентности и иммунного статуса конкретной свиноматки.

3. Для создания терапевтического эффекта доза препарата для супоросных свиноматок должна быть выше, чем для других хозяйственных групп.

4. При соблюдении условий содержания и кормления, формальном функционировании иммунной системы, отсутствии латентно протекающих инфекций препарат оказывает положительный эффект у свиноматок всех хозяйственных и половозрастных групп.

5. Независимо от физиологического состояния свиноматок, при введении Ронколейкина в терапевтической дозе, во всем случаях отмечается положительная реакция со стороны иммунной системы, особенно в течении 14-21 дня после введения. Дозы меньше рекомендуемой терапевтической, влияют на иммунный статус, но не достоверно.

Литература. 1. Авдеева Ж.И. Цитокины как иммунобиологические препараты // Биопрепараты. 2004. - № 4 (16). - С. 2-6. 2. П.Белкова, А.Н. Применение ронколейкина в свиноводстве / А.Н.Белкова // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2006. - №10. - С.54-57. 3. Золотарева, Н.А. Иммунодефициты: профилактика и борьба с ними / Н.А.Золотарева // Ветеринарная патология. 2003. - №2. — С. 55-56. 4. Кашуба, Э.А. Влияние герпетических инфекций на течение беременности / Э.В. Кашуба [и др.] // Материалы международного Евро-Азиатского конгресса по инфекционным болезням «Актуальные вопросы инфекционной патологии». - Витебск, 2008. - С. 144-145. 5. Островский, М.В. Возможность иммунопротекции в свиноводстве / Рынок АПК. - 2007. - № 11 (49). - С. 81. 6. Островский, М.В. Ронколейкин: методические рекомендации для ветеринарных врачей / М.В.Островский, А.Н.Моисеев, Е.Д.Сахарова. - Санкт-Петербург: из-во "Альтер Эго", 2009. - 28 с. 7. Островский, М.В. Ронколейкин® - современный подход к лечению заболеваний животных / М.В. Островский // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития: материалы VII Всероссийской научно-практической конференции. - Саратов, 2007. - С. 271-275. 8. Федоров, Ю.Н. Иммунокоррекция: применение и механизм действия иммуномодулирующих препаратов / Ю.Н.Федоров // Ветеринария. 2005. №2.-С. 3-6. 9. Almeida A., Legrand N., Papiemik M. et al. Homeostasis of peripheral CD 4+ T-cells: IL-2R alpha and IL-2shape a population of regulatory cells that controls CD 4+ T-cell numbers // J.Immunol. 2002. - Vol. 169. - P. 4850-4860. 10. Carol, B. DNA array analysis of interleukin-2 regulated immediately genes / B. Carol, A.S. Kendall // Med. Immunol. - 2002. - Vol.1. - P. 1-14 11. Rebecca, J. D. Innate Immunity to Herpes Simplex Virus Type 2 / J. D. Rebecca, A.M. Morrison // Viral Immunology. 2003. - № 16(4). - P. 475-490.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:616.98:578.825.1:615.37-084

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМА И БЕЛКОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Красочко П.П.

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

Приведены данные о структуре генома и дана характеристика белков вируса диареи крупного рогатого скота. Детализировано описаны функции вирусных белков и проанализированы их иммуногенные свойства. Установлено, что геном вируса представлен одноцепочечной линейной положительной нитью РНК длиной 12,5 тыс. пар нуклеотидов, который кодирует белки N^{pro}, C, E^{ms}, E1, E2, p7, NS2-3, (NS2), (NS3), NS4A, NS4B, NS5A, и NS5B.

Genome structure and protein characteristic of Bovine viral diarrhea virus are shown. Detailed functions of virus protein are described and analyzed their immunogenic properties. Viral genome presented by single stranded positive RNA (12,5 kbp), which codes proteins N^{pro}, C, E^{ms}, E1, E2, p7, NS2-3, (NS2), (NS3), NS4A, NS4B, NS5A, and NS5B.

Введение. Вирусная диарея крупного рогатого скота или болезнь слизистых крупного рогатого скота распространена по всему миру, в том числе и в Республике Беларусь. Экономическая значимость вирусной диареи связана с гибелью плода при внутриутробном инфицировании на ранних стадиях беременности или рождении ослабленных, нередко нежизнеспособных телят, при заражении плодов на более поздних стадиях. Кроме того, при заражении плода до наступления его иммунологической компетентности (80-120 день) животное после рождения остается пожизненным вирусоносителем с отсутствием специфических антител, т.е. резервуаром инфекции.

В настоящее время бурное развитие молекулярно-генетических методов позволяет создавать принципиально новые средства не только диагностики, но и профилактики болезней. Новые методы диагностики позволяют значительно сократить время на постановку диагноза и повысить его достоверность, а средства профилактики снизить риск осложнений и повысить эффективность вакцинации. Однако, разработка данных методов невозможна без глубокого анализа генома, структур, им кодируемых, и их функций.

Вирус диареи (BVDV) относится к семейству Flaviviridae, роду Pestivirus. К этому же семейству относятся вирусы классической чумы свиней и пограничной болезни овец [1], которые схожи в организации генома. Выделяют 2 типа BVDV – тип 1 (BVDV-1) и тип 2 (BVDV-2), которые различны в антигенном отношении и могут быть дифференцированы с использованием моноклональных антител против главных гликопротеинов E2 и E^{RNS}