

Таблица 2 – Показатели качества растворителя для вакцины опытной серии

Наименование показателей	Результаты исследований
Внешний вид растворителя	Прозрачная жидкость
Цвет растворителя	Светло-желтый
Стерильность растворителя	Рост микрофлоры в посевах из растворителя на питательных средах отсутствует
Концентрация водородных ионов	7,1
Безвредность растворителя	Введение раствора белым мышам не вызывает заболевания и гибели животных в течение срока наблюдения

Заключение. На основании проведенных исследований нами приготовлена вакцина сухая живая против рожи свиней из матрикса Конева опытной серии с растворителем к ней. По своим показателям биопрепарат и растворитель соответствуют требованиям действующих ТУ.

Литература: 1. Дремач, Г.Э. Эффективность применения депонированной (концентрированной) вакцины против рожи свиней / Г.Э. Дремач // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – Т. 42. – Вып. 2, ч. 1. – С. 72-75. 2. Ездакова, И.Ю. Оценка иммуномодулирующей активности вакцины против рожи свиней (VP-2) в процессе иммуногенеза / И.Ю. Ездакова, Ю.Н. Федоров, И.В. Третьякова // Труды ВИЭВ. – 2003. – Т. 73. – С. 200-204. 3. Разработка новых средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск: УО ВГАВМ, 2004. – Т. 40, ч. 1. – С. 245-246. 4. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // Ветеринарная наука – производству: Науч.-практ. конф. “Актуальные проблемы вет. медицины в условиях современного животноводства”, посвященной 75-летию Института экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси и 100-летию со дня рождения академика Р.С. Чеботарева. – Минск, 2005. – Вып. 38. – С. 359-361. 5. Совершенствование специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск: УО ВГАВМ, 2003. – Т. 39, ч. 1. – С. 83-85. 6. Специфическая профилактика рожи свиней / Р.В. Душук [и др.] // Ветеринария. – 2002. – № 3. – С. 33-35.

УДК 619: 615.37

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ПУЛСАЛ» ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ПОРОСЯТ ОТЪЕМНОГО ПЕРИОДА

Зайцева А.В.

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

В статье представлены материалы по изучению безвредности препарата “ПулСал” на лабораторных животных и его иммунологической активности на поросятах отъемного периода. В ходе исследований установлено, что препарат является безвредным, оказывает влияние на естественную резистентность организма животных, повышает сохранность и прирост живой массы поросят.

The article contains the data on the safety of the PulSal compound on laboratory animals and its immunological potency on pigs. The compound has proved to be safe, have positive influence on the animals' resistance, increase body weight gain.

Введение. Следует отметить, что эксплуатация животных с целью увеличения их продуктивности, обилие стресс-факторов способствует снижению резистентности животных в результате поражения иммунной системы и механизмов неспецифической защиты. Поэтому встает потребность в коррекции иммунных и ферментных систем. Восстановление функциональной активности иммунной системы является неотъемлемой частью комплексной терапии различных патологических состояний (Е.В. Баева, 1991; Н.Ю. Басова, 2005; П.А. Красочко, 2001).

Ряд ведущих специалистов полагают, что применение иммуномодуляторов в сочетании с вакцинами может приводить к усилению иммунного ответа, формированию быстрой эндогенной защиты, устранению их иммунодепрессивного действия, стимуляции клеточного звена иммунитета с расширением спектра защиты от микроорганизмов на длительный срок (Е.П. Начарова, 2004; Т.В. Орлов, 2004; Т.А. Семенов, 1989; Э.Н. Шляхов, 1984).

В последнее время широко испытаны препараты на основе бактериальных липополисахаридов для иммунокоррекции у разных видов животных и птиц (М.П. Бабина, 1999, 2001; И.М. Карпуть, 1999; В.В. Ковзов, 1998; П.А. Красочко, 1998; В.М. Проценко, 1998).

Эндотоксин – высокомолекулярный комплекс, локализованный в наружной мембране грамотрицательных бактерий (Н.Д. Movat et al., 1987).

В высоких дозах эндотоксин ведет к необратимому шоку и смерти. С другой стороны, эндотоксин может давать полезные эффекты: неспецифическую активацию клеток иммунной системы (E. Jirillo et al., 1984; H.S. Warren et al., 1988), усиление действия антигенов со слабой иммуногенностью, действие на структуры и функции множества ферментных систем и медиаторов, а также индуцирование неспецифической устойчи-

восте к вирусным и бактериальным инфекциям, регрессию и некроз некоторых опухолей (Т. Toni et al., 1984; H.J. Movat et al., 1987).

Известно несколько методов выделения эндотоксина (А. Boivin, L. Mesrobeann, 1935; А.М. Staub, 1965; О. Westphal, К. Jann, 1965; L. Lieve, D. Morrison, 1972). Основным является метод, разработанный А. Boivin, L. Mesrobeann (1935), который позднее модифицировал А.М. Staub (1965) и О. Westphal, К. Jann (1965). По методу А. Boivin эндотоксин получают в виде липополисахарида (ЛПС) в комплексе с белком (белка до 10%), а при использовании метода О. Westphal получают преимущественно ЛПС.

ЛПС грамотрицательных бактерий состоит из гидрофобной липидной части, так называемого липида А, и гидрофильного гетерополисахарида, который подразделяют на О-специфическую цепь и олигосахаридный остов (кор). О-цепи имеют индивидуальное химическое строение и определяют серологическую специфичность, а кор-полисахарид и липид А имеют антигенные структуры, которые подобны в ЛПС различных грамотрицательных бактерий. Строение внутренней области кор энтеробактериального ЛПС уточнено в последнее время (L. Brade et al., 1988).

Введение ЛПС с гидрофобной молекулой, например фосфолипидом и липопротеином, вызывало ответ в виде Ig-G₁, а введение ЛПС в комплексе с липофильными молекулами белков способствовало образованию анти-ЛПС Ig-G₂-класса (Н. Karch, К. Nixdorff, 1983). Таким образом, и гидрофильные и гидрофобные производные действуют как адъюванты.

Восприимчивые клетки, такие как В-лимфоциты, макрофаги, пластинка, гепатоциты, взаимодействуя с эндотоксином, освобождают медиаторы, которые действуют на многие другие типы клеток или на клетки, которые осуществляют начальное взаимодействие с эндотоксином.

Одно из наиболее выраженных проявлений иммуностропного действия ЛПС — их способность модулировать активность макрофагов.

Протективный эффект ЛПС при различных инфекциях подтверждается многочисленными экспериментальными и клиническими наблюдениями (З.В. Ермольева, Г.Е. Вайсберг, 1983; Д.Н. Лазарева, Е.К. АLEXIN, 1985; J. Chase et al., 1986). Опосредованной активацией иммунной системы антиинфекционный спектр свойств ЛПС достаточно широк и включает активность в отношении инфекций, вызванных вне- и внутриклеточными микроорганизмами, патогенными грибами, простейшими. Так, при генерализованной инфекции у мышей, вызванной различными возбудителями (протей, стафилококк, синегнойная палочка и пр.), продигозан обеспечивал 100% выживаемость животных при гибели в контроле 90% (З.В. Ермольева, Г.Е. Вайсберг, 1983).

Повышение устойчивости к инфекции целиком обусловлено мобилизацией антиинфекционных механизмов макроорганизма. Как известно ЛПС не оказывает прямого действия на микроорганизмы. Важна также способность ЛПС повышать эффективность антибиотикотерапии вне зависимости от используемого антибиотика (З.В. Ермольева, Г.Е. Вайсберг, 1983).

ЛПС является мощным активизатором секреторной деятельности макрофагов. Стимуляция макрофагов ЛПС не связана с прямой макрофаготоксичностью (G. Lemaire et al., 1985), что принципиально отличает их от адъювантов типа БЦЖ, мурамилдипептида, *S. parvum* и др.

Полагают, что компонентом, ответственным за стимуляцию макрофагов, является липид А, который связывается со специфическим рецептором на мембране клетки (N. Haeflner-Cavaiillon et al., 1985). Обнаружено, что ЛПС трансформированный в макрофагах, обладает в 10-100 раз большей иммуностропной активностью, чем ЛПС не вступивший во взаимодействие с макрофагами (R. Duncan, Y. Hoffman et al., 1986).

Способность ЛПС стимулировать антителогенез у иммунизированных животных впервые описал А. Johnson с соавторами (1956). Позднее выяснилось, что адъювантный эффект наблюдается лишь тогда, когда ЛПС введен одновременно с антигеном или после него. Введение ЛПС до антигенного премирования приводило к ингибции иммунного ответа. ЛПС оказывают прямое митогенное действие на В-клетки, вызывая положительную активацию В-лимфоцитов (D. Jacobs, 1983 и др.).

Митогенное действие ЛПС на В-клетки не требует участия Т-клеток и макрофагов, хотя в присутствии вспомогательных клеток оно выражено сильнее.

Если поликлональная активация возникает при непосредственном воздействии ЛПС на В-лимфоциты, то для адъювантного эффекта ЛПС в процессе иммунного ответа на антигенную стимуляцию необходимо также участие Т-клеток и макрофагов. Функцию макрофагов можно было заменить добавлением в культуру ИЛ-1 (J. McGree et al., 1980).

Таким образом, ряд экспериментов позволил установить концепцию иммуномодулирующего действия ЛПС.

Высокая чувствительность иммунной системы к ЛПС имеет глубокую физиологическую основу и связана с процессом взаимодействия макроорганизма с грамотрицательной микрофлорой кишечника.

Большинство известных ЛПС токсично, что ограничивает их массовое применение в ветеринарии. Из малотоксичных стимуляторов неспецифической резистентности организма, наибольшее значение в нашей стране имеют продигозан из *S. marcescens* и пирогенал из *Pseudomonas aeruginosa*.

В связи с этим создание высокоэффективных и в тоже время, малотоксичных иммуномодуляторов остается актуальной задачей современной клинической иммунологии.

Целью настоящей работы явилось изучение безвредности и иммунологической активности разработанного нами препарата "ПулСал".

Для реализации поставленной цели были поставлены следующие задачи:

Изучить безвредность препарата на белых мышах;

Определить иммунологическую активность препарата "ПулСал" серии №3, 4, 5.

Материалы и методы. Исследование по определению безвредности препарата "ПулСал" на белых мышах проводили в условиях УП «Витебская биофабрика», остальная часть работы выполнялась в услови-

ях свинокомплекса «Прогресс» ОАО «Лидахлебпродукт» Лидского района Гродненской области.

Безвредность препарата изучали при однократном подкожном введении раствора препарата (1: 9) белым мышам в дозах 0,1 см³, 0,25 см³, 0,5 см³. Каждую дозу препарата вводили 10 белым мышам. Наблюдение за животными осуществляли в течение 10 суток.

Исследования по производственному испытанию биологической активности препарата «ПулСал» серии №3, изготовленной в августе 2006г из баксуспензии, содержащей 50 млрд/см³ м.к. сальмонелл, серии №4, изготовленной в декабре 2006г из баксуспензии, содержащей 25 млрд/см³ м.к. сальмонелл и серии №5, изготовленной в декабре 2006г из баксуспензии содержащей 100 млрд/см³ м.к. сальмонелл проводили на поросятах. Препарат «ПулСал» серий № 3, 4 и 5 изготавливали на УП «Витебская биофабрика».

Для проведения исследования было сформировано 5 групп поросят по 100 животных в группе, подобранных по принципу условных аналогов. Отъем поросят производили на 26 сутки жизни.

Поросятам первой опытной группы в возрасте 27, 32, 46, 50, 65 и 72 суток препарат серии № 3 вводили подкожно соответственно в дозах 0,5 см³, 0,6 см³, 0,6 см³, 0,8 см³, 1,0 см³ и 1,0 см³. Поросятам второй опытной группы в возрасте 27, 45, 60 и 75 суток препарат серии № 3 применяли подкожно соответственно в дозах 0,5 см³, 0,6 см³, 0,8 см³ и 1,0 см³. Поросятам третьей опытной группы в возрасте 27, 45, 60 и 75 суток препарат серии № 4 вводили подкожно соответственно в дозах 0,5 см³, 0,6 см³, 0,8 см³ и 1,0 см³. Поросятам четвертой опытной группы в возрасте 27, 45, 60 и 75 суток препарат серии № 5 инъецировали подкожно соответственно в дозах 0,5 см³, 0,6 см³, 0,8 см³ и 1,0 см³. Поросятам пятой (контрольной) группы в возрасте 27, 45, 60 и 75 суток вводили подкожно в дозе 1,0 см³ стерильный 0,9 %-ный раствор натрия хлорида.

Препарат вводили с соблюдением правил асептики и антисептики. Во всех опытах учитывали влияние разных серий препарата «ПулСал» на заболеваемость, сохранность и среднесуточный привес поросят. От 10 поросят каждой группы через 7 суток после последней инъекции препарата (82 сутки жизни) производили забор крови из венозного орбитального синуса для проведения морфологических и иммунологических исследований. В крови животных определяли содержание лейкоцитов, лимфоцитов общепринятыми методиками, содержание Т-лимфоцитов – в реакции спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана, В-лимфоцитов – в реакции розеткообразования с эритроцитами барана, нагруженными комплектами, общего белка – биуретовым методом, иммуноглобулинов G и A методом электрофореза белков в полиакриламидном геле, бактерицидную активность сыворотки крови – по методу Мюнселю и Треффенсу в модификации О.В. Смирновой и Т.Н. Кузьминой (1966).

Результаты исследований. Клиническими исследованиями установлено, что белые мыши всех опытных групп не проявляли беспокойства, были подвижными, позывы к корму и воде сохранялись, отклонений в их общем состоянии не регистрировали.

При осмотре органов и тканей подопытных животных, убитых через 7 суток после введения препарата, макроскопических изменений на слизистых органах дыхания, желудочно-кишечного тракта, на месте инъекции препарата и в легких, печени, селезенке и почках не установлено.

Таким образом, в проведенных экспериментах установлена безвредность препарата в испытанных дозах.

Результаты исследований иммунологической активности препарата «ПулСал», полученного в разных условиях, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели иммунного статуса поросят, используемых в опыте по определению иммунологической активности препарата «ПулСал»

Показатели	№№ группы				
	1	2	3	4	5
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	13,44±0,20	13,5±0,25	12,63±0,26	13,10±0,28	10,12±0,60
Лимфоциты, %	7,82±0,24	7,85±0,30	7,36±0,25	7,74±0,32	6,11±0,42
Общий белок, г/л	93,8±2,14	95,6±2,24	93,6±2,44	90,2±3,06	75,4±1,52
Имуноглобулины G + A, г/л	21,73±0,95	21,68±0,92	21,16±0,90	21,12±0,86	17,86±0,88
Бактерицидная активность сыворотки, %	74,20±1,08	73,65±2,12	72,24±0,96	71,88±1,66	61,36±0,92
Т- лимфоциты, 10 ⁹ /л	5,21±0,22	5,24±0,25	5,08±0,20	5,15±0,18	4,14±0,22
В- лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,40±0,086	1,42±0,091	1,36±0,082	1,32±0,080	1,06±0,082
Фагоцитарное число	6,34±0,28	6,34±0,24	6,12±0,25	6,19±0,25	5,18±0,25
Процент фагоцитоза	54,6±0,68	55,2±0,66	52,8±0,52	53,6±0,60	48,2±1,26
Фагоцитарный индекс	3,18±0,22	3,21±0,20	3,10±0,15	3,06±0,20	2,56±0,18
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	3,27±0,18	3,30±0,14	3,24±0,15	3,28±0,15	2,89±0,15
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,35±0,02	0,38±0,02	0,29±0,02	0,37±0,03	0,28±0,02

Из данных, помещенных в таблице 1, видно, что содержание лейкоцитов у поросят опытных групп через 7 суток после последней инъекции препарата (82 сутки жизни) на 24,8 – 33,4%, лимфоцитов – 20,4 – 28,5%, Т-лимфоцитов – 20,4 – 26,6%, В-лимфоцитов – 28,2 – 34,1%, иммуноглобулинов G+A – 18,5 – 21,7% и общего белка – 24,2 – 26,8% выше, чем у животных контрольной группы.

В опыте было установлено, что препарат «ПулСал» серии №3, 4 и 5 стимулировал иммунную систему. Среди поросят контрольной группы за период эксперимента заболеваемость поросят к 60 и 90 суточному возрасту составляла 15 и 28%, а падеж соответственно 6,0 и 10,0%.

У поросят 1, 2, 3 и 4 опытных групп заболеваемость к 60 суточному возрасту составила 3,0 – 9,0%, а

падеж – 2,0 – 4,0%.

У поросят 1, 2, 3 и 4 опытных групп заболеваемость к 90 суточному возрасту составила 11,0; 10,0; 19,0 и 12,0%, а падеж соответственно 3,0; 3,0; 7,0 и 4,0%.

Таблица 2 – Хозяйственно-экономические показатели эффективности иммунокоррекции препаратом “ПулСал”

Показатели	№ опытной группы поросят				
	1	2	3	4	5 (контроль)
Заболеваемость с отъема до 60 суток, %	3,0	3,0	9,0	4,0	15,0
Падеж с отъема до 60 суток, %	2,0	2,0	4,0	2,0	6,0
Привес с отъема до 60 суток, г/сутки	282	284	251	280	247
Заболеваемость с отъема до 90 суток, %	11,0	10,0	19,0	12,0	28,0
Падеж с отъема до 90 суток, %	3,0	3,0	7,0	4,0	10,0
Привес с отъема до 90 суток, г/сутки	400	402	388	396	380
Средний вес поросенка в 90 суточном возрасте, кг	30,20	30,35	29,22	29,89	28,65
Повышение веса поросят опытных групп по сравнению с контролем	+ 1,55	+ 1,7	+ 0,57	+ 1,24	

Наиболее низкая заболеваемость поросят отмечалась в 1, 2 и 3 группах и составила 10,0 – 12,0%. Наиболее высокая сохранность установлена в 1, 2 и 3 группах животных – 96,0 – 97,0%.

Прирост живой массы за период наблюдения был выше у поросят, обработанных препаратом “ПулСал” серии №3, 4 и 5 при этом наиболее значительно у животных 1, 2 и 4 групп и составило 396 – 402г, в то же время в контрольной группе – 380г/сутки. Средний вес поросят 1, 2 и 4 опытных групп к 90 суточному возрасту был выше, чем в контрольной группе соответственно 1550г, 1700г и 1240г.

Заключение. По результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

Препарат “ПулСал” серии №3, 4, 5 является безвредным для лабораторных животных и повышает иммунологические показатели крови у поросят;

Наиболее выраженным иммунокорректирующим эффектом при четырехкратном и шестикратном введении обладает препарат серии №3, полученный из баксуспензии, содержащей 50 млрд/см³ м. к. сальмонелл.

Литература: 1. Бабина, М.П. Профилактика желудочно-кишечных болезней у цыплят-бройлеров микробным полисахаридом / М.П. Бабина // Ученые записки ВГАВМ. - Витебск, 1999. - Т. 35, ч. 1. - С. 157-159. 2. Бабина, М.П. Препарат Сальмопул в повышении неспецифической и адаптивной защиты против болезни Ньюкасла / М.П. Бабина // Ученые записки ВГАВМ. - Витебск, 2001. - Т. 37, ч. 2. - С. 7-8. 3. Баева, Е.В. Функции иммунной системы при стрессовых воздействиях в раннем постнатальном онтогенезе: Автор. дисс. ... докт. биол. наук: 14. 00. 16. / Е.В. Баева // НИИ эксп. медиц. - Ленинград, 1991. - 34 с. 4. Басова, Н.Ю. Иммунологическая реактивность и её коррекция при респираторных болезнях телят / Н.Ю. Басова, А.Ч. Шипицин // Ветеринария. - 2005. - №12. - С.18. 5. Иммунотерапевтические возможности применения липида у больных с вторичными иммунодефицитными состояниями. Метод. реком. М., 1996. 6. Карпуть, И.М. Профилактика гастроэнтеритов у поросят посредством коррекции иммунной недостаточности / И.М. Карпуть, В.М. Проценко, Т.Р. Жишкевич // Ученые записки ВГАВМ. - Витебск, 1999. - С. 180-182. 7. Ковзов, В.В. Лечение телят, больных энзоотическим зобом с коррекцией иммунного статуса / В.В. Ковзов // Ученые записки: Материалы научно-практической конференции, посвященной 70-летию клинических кафедр, г. Витебск, 14-15 апреля 1998г. - Витебск, 1998. - С. 42-44. 8. Красочко, П.А. Бактериальный липополисахарид – стимулятор поствакцинального иммунитета при вирусных, респираторных инфекциях телят / П.А. Красочко, В.А. Машеро // Ученые записки ВГАВМ. - Витебск, 1998. - С. 144-146. 9. Красочко, П.А. Иммулитет и его коррекция в ветеринарной медицине / П.А. Красочко [и др.]. - Смоленск, 2001. - 340 с. 10. Начарова, Е.П. Превентивная иммунокоррекция как способ повышения эффективности и безопасности вакцинации / Е.П. Начарова, С.М. Харит, С.В. Петленко // Terra Medica. - 2004, 1(33). - Р. 134-137. 11. Орлов, Т.В. Зависимость эффективности вакцинопрофилактики гриппа от исходного состояния иммунной системы / Т.В. Орлов, Ю.Г. Суховой, И.Г. Унтер // Эпидемиол. вакцинопроф. - 2004. - 4(17). - С. 17-20. 12. Проценко, В.М. Липополисахариды в коррекции иммунной недостаточности в профилактике гастроэнтеритов у поросят / В.М. Проценко, Т.Р. Жишкевич // Ученые записки ВГАВМ. - Витебск, 1998. - С. 66-88. 13. Семенов, Т.А. Эпидемиологическое обоснование применения иммуномодуляторов для профилактики массовых инфекционных заболеваний человека: Автореф. дисс. ... доктора мед. наук / Т.А. Семенов. - М., 1989. - 36 с. 14. Шляхов, Э.Н. Стимуляция поствакцинального процесса (на примере иммунизации против сибирской язвы) / Э.Н. Шляхов, В.Ф. Кику. - Кишинев: Штипанца, 1984. - 200 с.

УДК 619: 579. 842. 11

ПОЛУЧЕНИЕ АДГЕЗИВНЫХ АНТИГЕНОВ E. Coli

Зайцев В.В., Билецкий М.О.

УП “Витебская биофабрика”, Республика Беларусь

Авторами статьи разработан метод очистки и концентрирования адгезивных антигенов эшерихий с использованием мембранной технологии, который позволяет получать очищенный препарат, удельная активность которого в 2 – 4 раза выше, чем не очищенного.