

національної академії наук. 2010. № 4. 2. Ятусевич, А. И. Адаптационные процессы и паразитозы животных: монография / А.И. Ятусевич, Н.С. Мотузко, В.А. Самсонович, И.А. Ятусевич, Е.Л. Братушкина. - Витебск: УО ВГАВМ, 2006. - 404 с. 3. Ятусевич, А. И. Разведение и болезни свиней (практическое пособие в 2 частях) / А.И. Ятусевич, В.В. Максимович, А.А. Абрамов [и др.]. Витебск: ВГАВМ, 2013. Ч.1-2. 337-606 с.

УДК 619:615.37.012

## СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЕ ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ В СТАТИСТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

Самуленко А.Я., Неминущая Л.А., Скотникова Т.А., Ковальский И.В., Еремец Н.К  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт  
биологической промышленности», г. Щелково, Россия

**Введение.** Одним из направлений биотехнологии является использование в практических целях биологической информации, получаемой с участием физиков, математиков, химиков, биологов.

Решение определенной научно-практической задачи в современной науке реализуется по следующей принципиальной схеме:

- получение больших баз данных при проведении экспериментов;
- их анализ и статистическая обработка, чтобы подтвердить или опровергнуть верность результатов эксперимента и исследований в целом.

Для предотвращения возможных ошибок при анализе больших массивов информации необходимо информационное сопровождение исследований: обработка экспериментальных данных методами многомерной статистики в специализированном программном пакете [1-4]. Это полностью относится к такой важной отрасли биотехнологии, как разработка и производство вакцин для специфической профилактики болезней сельскохозяйственных животных и птицы, поскольку сопровождается широким спектром биологических и физико-химических экспериментов с получением больших объемов данных [5,6].

Стабильность – один из основных показателей качества лекарственных средств (ЛС), в том числе иммуннобиологических препаратов, который обеспечивает сохранение их терапевтических и профилактических свойств в процессе распределения и хранения. В соответствии с ФЗ-№ 61, ГОСТ Р 52249-2009 и «Правилами организации производства и контроля качества лекарственных средств», утв. приказом министерства промышленности и торговли РФ от 14 июня 2013 г № 916, стабильность должна быть проверена на этапе разработки нового препарата и является объектом особого внимания на этапах регистрации, производства и пострегистрационного контроля. В комплект документов, представляемых для регистрации ветеринарных ЛС, должен быть включен отчет по изучению стабильности, на основании которого устанавливают срок годности, условия хранения и транспортирования данного препарата [7,8].

Цель данной работы – изучение кинетики термоинактивации биологической активности вируса НБ штамма «Ла-Сота» и автоматизация процесса получения количественной оценки стабильности сухой вакцины в пострегистрационный период.

**Материалы и методы исследований.** Работа выполнена в отделе обеспечения качества. Для эксперимента использовались образцы сухой вакцины опытно-промышленных серий опытного производства ВНИТИБП.

Термоинактивацию вирусосодержащего материала проводили в термостатах и ультратермостатах с колебанием температуры  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  (препарат выдерживали при температурах  $37^{\circ}$ ,  $55^{\circ}$ ,  $70^{\circ}$  С в течение времени, выбранного так, чтобы снижение биологической активности вируса было статистически значимым).

Инфекционную активность вируса НБ и образцов вакцин определяли титрованием на 9-10 суточных КЭ и рассчитывали по методу Кербера в модификации Ашмарина.

Для предобработки данных использовано приложение MS Excel из пакета офисных программ компании Microsoft – MS Office.

Для обеспечения эффективной работы на всех этапах анализа данных и представления результатов проведен анализ трех доступных статистических пакетов (STADIA - Россия, STATISTICA - США, SPSS - Statistical Package for Social Science).

**Результаты исследований.** Авторами исследована кинетика термоинактивации биологической активности вакцинного вируса НВ; проведен статистический анализ, для чего были вычислены основные показатели для каждой отдельной серии при температурах 37, 55, 70<sup>0</sup>С; проанализированы существующие программные пакеты для статистической обработки, проведен анализ на нормальность распределения рассматриваемых выборок; проведен корреляционный и регрессионный анализ для определения порядка кинетического уравнения; вычислены константы скорости инактивации.

Для разработки математической модели процесса термоинактивации и получения необходимой биологической информации проводили активный эксперимент с применением искусственного воздействия температур на биообъект по специальной программе. Всю совокупность полученных данных и, как следствие, методов их автоматизированного анализа можно разделить на две группы: детерминированные и статистические. Детерминированные данные имеют место в тех случаях, когда известен вид функциональной зависимости, связывающей значения исследуемых показателей. Лишь в сравнительно немногих случаях можно считать, что реальная зависимость, связывающая некоторые исследуемые показатели биологического объекта, носит детерминированный характер. Результатами наших экспериментов являются недетерминированные данные, к которым применимы методы математической статистики.

Для получения достоверной информации проводили несколько серий экспериментов с существенным объемом данных, что потребовало автоматизации их обработки.

Процесс автоматизации обработки результатов состоял из двух этапов:

1. Перевод качественных показателей – в количественные для последующей обработки.

2. Анализ полученных данных – методами математической статистики.

Из трех доступных статистических пакетов (STADIA - Россия, STATISTICA - США, SPSS - Statistical Package for Social Science) был выбран последний, имеющий русскоязычную версию. SPSS предлагает полный набор инструментов, обеспечивающих эффективную работу на всех этапах анализа данных и представления результатов.

Для вычисления констант скорости инактивации ( $K_T$ ) по исходным данным 4-х серий вакцины при температурах 37, 55, 70<sup>0</sup>С была проведена следующая работа:

а) проверка на нормальность распределения с целью выбора параметрических либо непараметрических статистических методов, используя для этого: построение гистограмм частот; определение обобщенных показателей; проверку гипотезы согласия с нормальным распределением по критерию Шапиро-Уилка;

б) обоснование использования кинетического уравнения 1 порядка для нахождения  $K_T$  с помощью проверки гипотезы о наличии линейной связи между активностью и временем с использованием: корреляционного анализа для определения наличия и значимости связи между вирусной активностью и временем инактивации при каждой из температур; регрессионного анализа для определения вида связи между активностью и временем инактивации и определением достоверности уравнений регрессии; вычисление коэффициентов регрессии, оценка их достоверности;

с) сравнение стабильности вакцин разных серий с проведением для этого анализа на достоверность различий.

Установлено, что исследуемые распределения имеют вид нормальных, что позволяет использовать параметрические методы. Препятствий к применению корреляционного и регрессионного анализа нет.

Корреляционный анализ показал наличие связи между временем и активностью

вируса. Значения коэффициентов корреляции исследуемых серий вакцины находятся в пределах  $0,7 < r \leq 0,99$ . Из этого следует, что между временем инактивации активности вируса и снижением его инфекционной активности наблюдаются высокие корреляции. При этом знак минус означает, что связь является обратной - увеличение времени ведет к снижению активности.

Для определения  $K_T$  - константы скорости инактивации (при конкретной температуре) необходимо было подтвердить, что экспериментальная зависимость соответствует уравнению химической кинетики 1 порядка:

$$Lgy = Lg - K_T \times t (1)$$

Чтобы определить соответствие этой модели, вначале необходимо было установить вид уравнения регрессионного анализа, а следовательно, построить диаграмму рассеяния, которая в графическом виде отображает отношения между двумя переменными: X и Y.

Линейная модель регрессии является простейшей и имеет вид:

$$y = b_0 + b_1 \times x (2), \text{ где}$$

y – прогнозируемое значение параметра Y,

$b_0$  – свободный член,  $b_1$  – коэффициент регрессии.

Далее вычисляли коэффициент детерминации R-квадрат, чтобы определить, насколько точно регрессионное уравнение описывает экспериментальную зависимость.

Коэффициент детерминации R-квадрат = 0,869, то есть в 86,9% случаев изменения X приводят к изменению активности Y по линейной зависимости.

Для проверки значимости регрессионной модели использован критерий Фишера. Значение  $F_{\text{эсп.}} = 1,438$  больше  $F_{\text{табл.}} = 5,99$  при уровне значимости  $p = 0,05$  свидетельствует о том, что модель является статистически значимой.

Таким образом, используя коэффициенты регрессии, можно определить величины констант скоростей инактивации в образцах каждой серии вакцины при любой температуре, и, следовательно, рассчитать соответствующее снижение ее активности.

**Заключение.** В результате проделанной работы показан линейный характер процесса термоинактивации, характеристикой которого является константа скорости инактивации ( $K_T$ ), что позволяет обоснованно перейти к количественной оценке стабильности биологической активности иммунобиологических препаратов.

Зависимость изменения активности вируса в сухой вакцине от времени при каждой из температур – линейная, поэтому величины  $K_T$  процесса термоинактивации вируса являются количественным выражением стабильности вакцины и при соответствующей постановке экспериментов могут быть использованы для оценки вклада различных факторов в ее стабильность на всех этапах жизненного цикла биопрепарата.

Применение специализированного программного обеспечения позволяет значительно ускорить исследовательский процесс с одновременным повышением точности обработки экспериментальных данных.

Разработанные методические подходы могут быть использованы разработчиками и производителями, выпускающими иммунобиопрепараты для ветеринарии и биологически активные добавки к кормам.

**Литература.** 1. Лапач, С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко. – Киев: «Морион», 2001. - 408с. 2. Ашмарин, И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев - Л.: Ленмедгиз, 1962. – 180 с. 3. Пеккер, Я.С. Компьютерные технологии в медико-биологических исследованиях. Сигналы биологического происхождения и медицинские изображения. Учебное пособие / Я.С. Пеккер, К.С. Бразовский. – М.: Темплан, 2002. - 240 с. 4. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. - М., 2003. – 79с. 5. Самуйленко, А.Я. Задачи биотехнологии в реализации доктрины производственной безопасности Российской Федерации / А.Я. Самуйленко, А.А. Раевский, Н.А. Бондарева и др. //

*Ветеринария и кормление. - 2011. - №2. - С.22-29. 6. Самуйленко, А.Я. Стабильные иммунобиопрепараты – залог успешной вакцинопрофилактики птиц / А.Я. Самуйленко, Л.А. Неминущая, Т.А. Скотникова // Труды Кубанского государственного аграрного университета (серия: Ветеринарные науки).- 2009.- № 1(ч.1).- С. 91-92. 7. Смоленский, В.И. Качество и стандартизация биопрепаратов против болезней птиц / В.И.Смоленский, Ю.В. Зуев, Т.В.Руденко и др. Ветеринария. – 2011. - №1. – С.44-47. 8. Стандартизация результатов по титрованию инфекционности вирусов. Комитет экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов. – Серия Технических Докладов ВОЗ, 31-й доклад, №658. – Женева, 1981. – С. 157-173.*

УДК 619:615:636.5

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИЦЕЛИЯ ГРИБА ШИИТАКЕ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ИББ

Стебловская С.Ю., Михалева Т.И., Бледнова А.В.

ФГБОУ ВПО «Курская ГСХА им. проф. И.И. Иванова», г. Курск, Россия

**Введение.** Как правило, большинство вирусных заболеваний животных тяжело поддаются лечению современными фармацевтическими препаратами, поэтому в настоящее время возникает большой интерес к разработке новых комбинированных средств с использованием сочетания вакцин и биостимуляторов. Одним из таких препаратов, на наш взгляд, может являться мицелий гриба Шиитаке. Выбор нами этого препарата основан на особенностях механизма действия грибного мицелия при вирусных инфекциях: модификация собственного иммунного ответа организма и прямое противовирусное действие, основанное на содержании в нем фитонутриентов – «вирусоподобных частиц», способствующих выработке интерферона – мощного белкового компонента иммунной системы, блокирующего размножение вирусов.

Инфекционная бурсальная болезнь (ИББ) птиц в нашей стране наносит огромный экономический ущерб бройлерным хозяйствам, т. к. часто протекает субклинически и на первый план выходят клинические и патологоанатомические признаки, свойственные вторичным инфекциям, что создает трудности при постановке диагноза и требует дополнительных исследований. Субклиническое течение ИББ возникает при заражении птицы в раннем возрасте. Так как клетками мишенями для этого вируса являются В-лимфоциты фабрициевой сумки, а она полностью развивается лишь к 21 дню, то вирус ИББ не имеет возможности размножиться в необходимом количестве и вызывать яркие клинические признаки, но подобное вмешательство вызывает иммуносупрессию. В результате птица отстает в росте, ухудшается однородность стада, повышается восприимчивость к секундарным инфекциям, птицы неадекватно реагируют на вакцинопрофилактику других заболеваний. Иногда результаты неудачной вакцинации против ИББ могут быть сопоставимы по нежелательным последствиям с субклиническим течением этой болезни [1].

Одно из условий успешной вакцинации – правильно подобранная вакцина. На сегодняшний день в арсенале врачей имеется 3 вида вакцин, условно – это мягкие (средние), промежуточные (средние плюс) и жесткие (горячие). Эти вакцины кардинально отличаются. У мягких вакцин отсутствуют негативные поствакцинальные последствия, но в то же время они не всегда могут обеспечить надежную защиту, а жесткие вакцины созданы для работы в очаге, во многом, благодаря им, удалось ликвидировать вспышки ИББ, но негативное воздействие этих вакцин на организм также велико из-за реактогенности. Естественно, наибольшей популярностью у ветеринарных врачей пользуются средние плюс вакцины – баланс эффективности и безопасности, хотя и они нуждаются в минимизации негативного воздействия на организм птицы. Из перечня этих вакцин выделяется Бурсин Плюс, производства Пфайзер. Она изготовлена из неклонированного штамма Лукерт. Этот штамм был получен ученым Lukert P.D. в 1973 году из вирулентного изолята ИИБ. Вакцины из этого штамма широко распространены в Европе и завоевывают популярность в России [2].