Таблица 2 - Число клеток в органах иммунной системы крыс через 7 суток после моделирования двукратной обработки бутоксом и отодектином (M±m), n=6

Исследуемый материал	Контроль	Бутокс	Отодектин
Тимус	1431,67±17,03	1109,00±10,72*	1425,33±81,01
Селезенка	1813,00±13,20	2327,33±15,53*	1302,66±17,13*
Брыжеечный лимфатический узел	1917,93±19,09	1800,53±5,77	1682,00±14,85*

Примечание: * - достоверность различий относительно контроля, p<0,05.

Определение массы и клеточности органов иммунной системы свидетельствует о том, что в тимусе крыс, обработанных бутоксом, общее число клеток в течение эксперимента снизилось на 22%. Введение отодектина существенно не отразилось на клеточности тимуса, однако статистически значимо сократилось количество клеток в селезенке и брыжеечных лимфатических узлах. После двукратной обработки бутоксом клеточность селезенки у крыс возросла на 28,4%. Количество клеток в лимфатических узлах статистически значимо не изменилось.

Менее информативными оказались индексы массы органов иммунной системы. Только у животных, обработанных отодектином, отмечено статистически значимое уменьшение индекса массы селезенки, хотя тенденция в изменении аналогичных показателей вполне соответствует закономерностям в изменении клеточности.

Заключение. Проведенные исследования указывают на иммунотропную активность противопаразитарных препаратов отодектина и бутокса.

Отодектин в терапевтических дозах угнетает в большей степени гуморальный иммунитет, о чем свидетельствует снижение показателей клеточности селезенки и лимфоузлов, а также индекса массы селезенки.

Двукратная обработка животных бутоксом в соответсвии с инструкцией по применению повышает клеточность селезенки, что указывает на напряженность гуморального иммунитета. При этом отмечается угнетение клеточного иммунитета.

Литература. *1. Герунова Л.К. Изменение метаболизма у крыс при хронической интоксикации ивертином / Л.К. Герунова, В.Д. Конвай, Е.В. Семеряк // Биологические аспекты фундаментальной и прикладной медицины в ветеринарии: материалы IV Межрег. науч.-практ. конф., посвященной 85-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ. – Омск, 2007. – С. 19-22. 2. Редькин Ю.В., Герунов Т.В. Морфология лимфатических узлов и клеток периферической крови у крыс при остром воздействии циперметрином в эксперименте // Аллергология и иммунология. - 2009. - Т. 10, №2. - С. 308.*

УДК 619:616.98:578.833.3:615.32

АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ВЕТОМ 1.23 В ОТНОШЕНИИ BVDV В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Глотова Т.И., Глотов А.Г., Никонова А.А., Семенова О.В.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока», г. Новосибирск, Россия

Введение. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота (ВД-БС КРС) – широко распространенное во всем мире заболевание, приносящее большие экономические потери [1-2]. Возбудитель заболевания - Bovine viral diarrhea virus (BVDV), относится к роду *Pestivirus*, семейству Flaviviridae. Инфекция может проявляться в виде расстройств органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, репродуктивной, сердечно-сосудистой, лимфатической, иммунологической, покровной или центральной нервной систем [2]. В настоящее время считается, что BVDV в сложном комплексе вирусных и бактериальных патогенов, является центральным возбудителем, вызывающим как «транзитную» при острых формах, так и длительную при субклинических и персистентных формах инфекции иммуносупрессию.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Во многих странах в качестве профилактических мероприятий BVDV используют вакцинацию восприимчивого поголовья, а также выявление и уничтожение персистентно инфицированных животных [3-4]. Вакцинопрофилактика не всегда эффективна из-за выраженной антигенной изменчивости и многообразия генетических вариантов возбудителя. Химиопрепаратов, применяемых на практике для эффективного лечения и профилактики данного заболевания, в настоящее время нет [5]. Однако в литературе опубликованы данные о вирулицидных свойствах некоторых химиотерапевтических препаратов разных групп в отношении BVDV, полученные в исследованиях *in vitro* [5-8]. Таким образом, поиск действенных лекарственных препаратов, обладающих противовирусной активностью в отношении возбудителя вирусной диареи-болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота, являющегося в настоящее время основным патогеном, причиняющим значительный экономический ущерб современному животноводству Российской Федерации, является актуальной задачей современной ветеринарной фармакологии.

В настоящее время во всем мире достаточно широко распространено применение пробиотиков с профилактической и терапевтической целью при разных инфекционных заболеваниях, несмотря на тот факт, что их противовирусная активность мало изучена [9]. Поэтому всестороннее изучение этих свойств у препаратов данной группы актуально для современной ветеринарной медицины.

В доступной литературе мы не нашли сведений о противовирусной активности пробиотиков в отношении BVDV, хотя встречаются сообщения об их активности в отношении других возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных [9-11]. В том числе упоминается об особых липопептидных противомикробных веществах, выделяемых *Bacillus subtilis* в процессе их жизнедеятельности, которые обладают вирулицидным действием в отношении вирусов – возбудителей болезней Ауески и Ньюкасла, инфекционного бурсита кур, парвовирусной инфекции свиней [12], везикулярного стоматита мышей, иммунодефицита обезьян, калицивируса кошек, вируса простого герпеса человека первого типа [13].

Биологически активное вещество ветом 1.23 представляет собой кукурузный экстракт, ферментированный рекомбинантным штаммом бактерии *Bacillus subtilis* ВКПМ В-10641.

Целью наших исследований являлось изучение противовирусной активности препарата ветом 1.23 в отношении BVDV в условиях in vitro.

Материалы и методы исследований. Исследовано биологически активное вещество (БАВ) ветом 1.23, серия 020313 (производитель – ООО НФП «Исследовательский центр»). Состав препарата: экстракт кукурузный, ферментированный бактериями рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1064, натрия хлорид, вода дистиллированная [14].

Для изучения его токсичности и противовирусной активности использовали культуру клеток КСТ (коронарные сосуды теленка) и цитопатогенный штамм ВК-1 вируса ВД-БС.

Культуру клеток КСТ выращивали в пластиковых флаконах (Nunc, Дания) в среде Игла МЕМ (производство ФГУП «Предприятие по производству бактерийных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН») с добавлением 5,0 ± 0,5 % эмбриональной сыворотки крови теленка (Fetal Bovine serum Standard Quality; PAA Laboratories GmbH, Austria; Cat №: A15–101; Lot № A10109–2946). Также использовали 0,01 %-й раствор химопсина в 0,02 %-м растворе Версена.

Для определения токсичности и тканевой цитопатогенной дозы ($ТЦД_{50}$) Ветом 1.23 вносили в различных разведениях (от 500 до 0,0001 $мм^3/см^3$) в 48-часовой монослой культуры клеток КСТ, выращенный на 96-луночном культуральном планшете. Для каждого разведения использовали 4 лунки. При этом наблюдение за состоянием клеточных культур проводили в течение 5–7 дней под малым увеличением микроскопа. Минимальная концентрация препарата, вызывающая цитотоксический эффект в 50 % лунок, определялась как тканевая цитопатогенная доза ($ТЦД_{50}$). Максимально переносимую концентрацию (МПК) препарата вычисляли по формуле МПК = $ТЦД_{50}/4$ [15].

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Противовирусное действие препарата определялось путем проведения двух опытов.

Для определения вирулицидного действия препарата на внеклеточную форму вируса к 1 мл вирусной суспензии BVDV (штамм ВК-1) с известной инфекционной активностью добавляли препарат в МПК, инкубировали в течение 60 мин при температуре 37 ºС, затем определяли инфекционную активность тест-вируса методом титрования. Контролем служил вирус без препарата. Вирулицидный эффект препарата рассчитывали, сравнивая инфекционную активность вируса в контрольном и опытном образцах.

Для определения вирулицидного действия препарата на внутриклеточную форму вируса монослой культуры клеток КСТ заражали вирусом BVDV (штамм ВК-1) в дозе не менее 100 ТЦД/кл, через 1 час после этого их отмывали питательной средой без сыворотки и вносили препарат в МПК (опыт) или разводящую среду (контроль). Через 72 часа культивирования вируса в таких биосистемах культуральную жидкость титровали. Противовирусный эффект препарата рассчитывали по соотношениям инфекционных активностей вируса в опытных и контрольных образцах. В каждом опыте проводили дополнительный контроль на токсичность испытуемой дозы препарата.

Определение инфекционной активности BVDV проводили микрометодом в 96-луночных культуральных планшетах (Costar) с культурой клеток КСТ с использованием не менее 4 параллельных рядов. Инфекционный титр вируса выражали в log_{10}ТЦД$_{50}$/0,1см ^{3}.

Препаратом, обладающим выраженным антивирусным эффектом, считали соединение, подавляющее размножение тест-вируса в культуре клеток на 1,7–2,0 log_{10} в сравнении с контролем [15].

Статистическую обработку полученных результатов исследований осуществляли в соответствии с общепринятыми методами [16]. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [17].

Результаты исследований. ТЦД$_{50}$ препарата ветом 1.23 составила 250 мм^3/см^3, что позволило нам определить его МПК для перевиваемой культуры клеток КСТ, которая составила 62,5 мм^3/см^3. В дальнейшем все исследования по определению противовирусной активности препарата в отношении BVDV (штамм ВК-1) проводили с использованием МПК препарата.

Активность препарата в максимально переносимой концентрации была незначительной и составила 0,375 log_{10} ТЦД$_{50}$/0,1 см^3 для внеклеточной формы вируса и 0,125 log_{10} ТЦД$_{50}$/0,1 см^3 для внутриклеточной формы вируса.

Заключение. В проведенном нами опыте была изучена противовирусная активность БАВ ветом 1.23 в отношении вируса ВД-БС КРС.

Ранее было установлено, что пробиотики класса ветом обладают противовирусной активностью в отношении некоторых вирусов животных [14]. В связи с этим, в научной литературе часто говорится о противовирусной активности данной группы препаратов, как об общем их свойстве [18-20]. Однако вирусы обладают разными механизмами действия, поэтому препарат эффективный в отношении одного вируса, может не обладать противовирусной активностью в отношении других вирусов. Наше исследование показало, что ветом 1.23 не обладает выраженной противовирусной активностью в отношении BVDV в условиях in vitro.

Литература. *1. Newcomer, B.W. Efficacy of bovine viral diarrhea virus vaccination to prevent reproductive disease: A meta-analysis/ B.W. Newcomer et al. // Theriogenology. – 2015. –№83. – P. 360–365.; Walz, P.H. Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants/ P.H. Walz et al. // Journal of Veterinary Internal Medicine. - 2010. № 24. P. 476–486.2. Walz, P.H. Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants/ P.H. Walz et al. // Journal of Veterinary Internal Medicine. - 2010. № 24. P. 476–486. 3. Newcomer, B.W. Approved and experimental countermeasures against pestiviral diseases: Bovine viral diarrhea, classical swine fever and border disease/ B.W. Newcomer,M. D. Givens.// Antiviral Res. – 2013. –№ 100. – P. 133-150. 4. Oirschot J.T., Bruschke C. J., Rijn P.A. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhea // Vet. Microbiol. 1999. № 64. P. 169–183.5. Глотов, А. Г. Изучение антивирусных свойств препаратов различного происхождения в отношении герпес- и пестивирусов крупного рогатого скота/ А. Г .Глотов, Т. И. Глотова, А. Н.Сергеев*

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

// Антибиотики и химиотерапия. – 2004. – № 6. – С. 6–9. 6. Глотова, Т.И. Эффективность нового препарата в отношении вируса вирусной диареи крупного рогатого скота/ Т.И. Глотова и др.// сборник научных трудов всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства(Ставрополь). – 2014. – С. 358-362. 7.Newcomer, B.W. Potential applications for antiviral therapy and prophylaxis in bovine medicine/ .W. Newcomer, P.H. Walz,M. D. Givens// Animal Health Research Reviews. – 2014. – Vol. 15, №1. – P. 102–117. 8. Tabarrini, O. Synthesis and Anti-BVDV Activity of Acridones As New Potential Antiviral Agents/ O. Tabarrini et al.// J. Med. Chem.- 2006.- №49. – P. 2621-2627. 9. Андреева, И. В. Потенциальные возможности применения пробиотиков в клинической *практике / И. В. Андреева // Клин. Микробиол. Антимикроб. Химиотер. – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 151–172. 10. Осипенко, М. Ф. Пробиотики в лечении диарейного синдрома / М. Ф. Осипенко и др.// Фарматека. – 2008. – № 13. – С. 36–41; Усенко, Д. В. К вопросу о роли пробиотических продуктов в профилактике заболеваний и сохранении здоровья человека/ Д. В. Усенко // Лечащий врач. – 2011. – № 7. – С. 230–231. 11. Усенко, Д. В. К вопросу о роли пробиотических продуктов в профилактике заболеваний и сохранении здоровья человека/ Д. В. Усенко // Лечащий врач. – 2011. – № 7. – С. 230–231. 12. Huang, X. Antiviral Activity of Antimicrobial Lipopeptide from Bacillus subtilis fmbj Against Pseudorabies Virus, Porcine Parvovirus, Newcastle Disease Virus and Infectious Bursal Disease Virus in vitro / X. Huang et al. // International Journal of Peptide Research and Therapeutics. – 2006. – Vol. 12, № 4. – P. 373–377. 13. Vollenbroich, D. Mechanism of Inactivation of Enveloped Viruses by the Biosurfactant Surfactin from Bacillus subtilis/ D. Vollenbroich et al. // Biologicals. – 1997. – № 25. – P. 289–297.14. Инструкция по применению: биологически активное вещество ветом 1.23.: утв. директором ООО НФП «Исследовательский центр» Леляк А. И. от 12.04.2012. [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: http://vetom.ru/content/view/543/5/. 15. Харбиев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. –М.: Медицина, 2005. 538 с.16. Ашмарин, И.П. Быстрые методы статистической обработки и планирования экспериментов/И.П. Ашмарин, Н.Н. Васильев, В.А. Амбросов. - Л.: ЛГУ, 1974. 76 с. 17. Львов, Д.К. Медицинская вирусология: Руководство / под ред. Д.К. Львова. - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. 656 с. 18. Кочарова, Н.П. Новое эффективное средство для профилактики и лечения желудочно-кишечных болезней телят[ветом 1.1 – продукт генной инженерии, обладающий высокой антивирусной и антибактериальной активностью]/Н.П. Кочарова// Ветеринария: реферативный журнал.- 1999.- № 1. - С. 153. 19. Смирнов, Ю.П. Поиск и исследования средств, повышающих устойчивость телят к заражению вирусом лейкоза крупного рогатого скота/ Ю.П. Смирнов и др.// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. - № 2. - С. 56-57. 20. Шевченко, А.И. Влияние пробиотиков ветома 1.1, ветома 13.1, селена и синбиотических комплексов на их основе на мясную продуктивность гусей/ А.И. Шевченко и др.// Достижения науки и техники АПК. - 2009. - № 4. - С. 48-49.*

УДК 619:615.9]:636. 087.7

ХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НОВОЙ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ТРИЛАКТОСОРБ

Кощаев А. Г., Лысенко Ю. А.
ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет»,
г. Краснодар, Россия

Введение. Известно, что в промышленном птицеводстве для борьбы с желудочно-кишечными заболеваниями, вызванными нарушением баланса микробной флоры в сторону условно-патогенных микроорганизмов, часто используют ветеринарные препараты, основу которых составляют антибиотики. Недостатком данных средств является то, что они не полностью выводятся из организма птицы, тем самым снижают качество получаемой продукции, которая в дальнейшем отрицательно влияет на потребителя [3; 4].

На сегодняшний день молочнокислые бактерии находят широкое применение в птицеводстве для борьбы с дисбактериозами, нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта, формировании микробных биоценозов. Во многих странах мира, в том числе России, для повышения продуктивности сельскохозяйственных птицы, а

РЕПОЗИТОРИЙ ВГАВМ