

УДК 578.72:579.66:615.1

АНТИВІРУСНА ТА ІМУНОМОДУЛЮЮЧА АКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНИХ ПРЕПАРАТІВ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Т. О. Бова

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН

У статті наведено результати дослідження антивірусної та імуномодуючої активності комплексних препаратів мікробного походження. Показано, що комплексний препарат, розроблений на основі біокомплексу псевдомонад і дріжджового манану проявляє виражену антивірусну активність та стимулюючу дію на клітинну ланку імунітету тварин.

Ключові слова: КОМПЛЕКСНІ ПРЕПАРАТИ, ТЕШОВІРУС, АНТИВІРУСНА АКТИВНІСТЬ, ІМУНОМОДУЛЮЮЧА АКТИВНІСТЬ, ФАГОЦИТОЗ

Сучасний епізоотичний стан щодо вірусних хвороб сільськогосподарських тварин, які частіше супроводжується імуносупресією, потребує високоефективних та безпечних противірусних препаратів широкого спектру дії. В зв'язку з цим актуальним залишається розробка та застосування препаратів, які поєднують властивості імуномодулятору та антивірусного засобу [1].

У практиці ветеринарної медицини знайшли застосування імуномодулятори з антивірусною активністю як природного походження (достим, гамавіт, риботан, фоспреніл, та інші), так і синтетичні (анандин, глікопін, імунофан та інші) [2–4].

Перспективними ветеринарними препаратами з імуностимулюючою та антивірусною активністю є малотоксичні сполуки мікробного походження [5, 6].

Метою нашої роботи було дослідити антивірусну та імуностимулюючу активність комплексних препаратів мікробного походження.

Матеріали і методи

У досліджах використовували комплексний препарат № 1 (КП 1) на основі продуктів біосинтезу бактеріальної культури *Pseudomonas sp.* PS-17 та глюкуронооксиломанану, виділеного з *Tremella mesenteric* комплексний препарат № 2 (КП 2) — біокомплекс бактеріальної культури *Pseudomonas sp.* PS-17 та β -глюкану, виділеного з *Ganoderma adspersum*, комплексний препарат № 3 (КП 3) — біокомплекс культури *Pseudomonas sp.* PS-17 та манану, виділеного з *Candida maltosa*, комплексний препарат № 4 (КП 4) — суміш попередніх препаратів. Концентрації активних компонентів у комплексних препаратах підібрані за результатами попередніх досліджень [5].

Антивірусну активність досліджуваних препаратів до штаму «Дніпровський-34» тешовірусу свиней 1-го серотипу, який зберігається в колекції штамів тешо-ентеровірусів

свиной Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН, визначали в культурі клітин ВНК-21.

Сформований моношар культури клітин ВНК-21, що вирощували в пробірках, відмивали розчином Хенкса і вносили досліджувані комплексні препарати в розведеннях 1:10 (C₁), 1:100 (C₂), 1:1000 (C₃). Після інкубації при 37 °С упродовж 1 доби вносили вірус з розрахунку 100 ТЦД₅₀/см³. Через 24 години інкубації при 37 °С зразки переглядали під оптичним мікроскопом, тричі заморожували і розморожували. Після чого інфекційну активність зразків визначали в моношарі культури клітин ВНК-21 за методом Ріда Л. й Менча Х. [7].

Вплив комплексних препаратів на неспецифічну резистентність тварин проводили на кролях породи сірий велетень віком 6 місяців і вагою 2–2,5 кг. Сформували 6 груп тварин-аналогів по 6 голів у кожній. Тваринам 1–4 груп підшкірно одноразово вводили КП 1 — КП 4 відповідно в дозі 1 см³. Тваринам 5 групи вводили повний ад'ювант Фрейнда (позитивний контроль), тваринам 6 групи — ізотонічний розчин NaCl. Кров брали через 1, 2, 3 тижні після введення. За тваринами дослідних і контрольних груп проводили щоденне клінічне спостереження упродовж досліду.

У крові тварин, стабілізованій антикоагулянтном, визначали фагоцитарну активність за Е. А. Кост і М. И. Стенко, розраховуючи інтенсивність поглинальної функції фагоцитів, індекс перебігу фагоцитозу, елімінуючу здатність крові [8].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента [9] за допомогою програми Microsoft Excel (вираховували критерій достовірності P).

Результати й обговорення

Встановлено, що титр тешовірусу штаму «Дніпровський-34» у культурі клітин ВНК-21 без внесення досліджуваних речовин становив 7,50 lg ТЦД₅₀/см³.

Максимальний антивірусний ефект КП 3 спостерігався при співвідношенні у підтримуючому середовищі 1:100. Інфекційний титр тешовірусу знижувався на 2,75 lg ТЦД₅₀/см³. При співвідношенні 1:10 та 1:1000 репродуктивна активність тешовірусу знижувалась відповідно на 1,25 та 2,25 lg ТЦД₅₀/см³ (рис.).

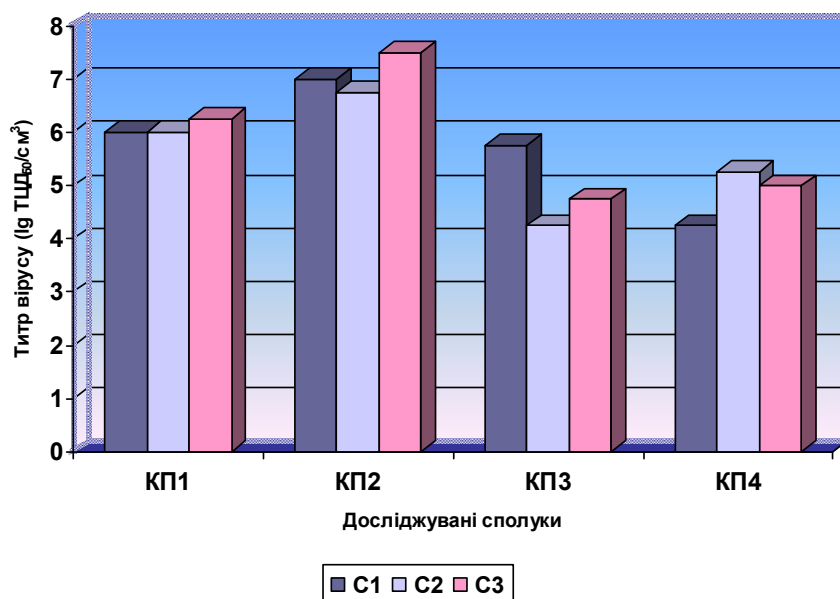


Рис. Вплив комплексних препаратів на інфекційну активність тешовірусу в культурі клітин ВНК-21

Комплексний препарат № 4 проявив найвищу антивірусну активність у всіх досліджуваних співвідношеннях. Інфекційний титр тешовірусу знижувався на $2,75 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ при вмісті у підтримуючому середовищі 1:10. Зменшення його концентрації в підтримуючому середовищі призвело до зменшення впливу на репродукцію тешовірусу в культурі клітин ВНК-21. Інфекційність вірусу знижувалася лише на 1,75 та $2,00 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ відповідно.

При додаванні КП 1 у підтримуюче середовище спостерігалось незначне зниження репродуктивної активності тешовірусу на рівні $0,75\text{--}1,00 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

Комплексний препарат № 2 порівняно з контролем не вплинув на репродуктивність тешовірусу в культурі клітин ВНК-21, а додавання його у підтримуюче середовище у співвідношенні 1:1000 навіть стимулювало розвиток вірусної інфекції. Інфекційний титр тешовірусу підвищився на $0,5 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

Отже, максимальну антивірусну активність в культурі клітин ВНК-21 проявили комплексні препарати № 3 та № 4, до складу яких входили біокомплекс псевдомонад та дріжджовий манан.

При вивченні впливу комплексних препаратів мікробного походження на фагоцитарну активність клітин крові тварин було встановлено, що інтенсивність поглинальної функції фагоцитів, індекс перебігу фагоцитозу та елімінуюча здатність крові після введення КП 3 та КП 4 значно підвищувалися порівняно з негативним контролем та був вищим за позитивний контроль (табл.).

Таблиця

Вплив комплексних препаратів на фагоцитарну активність крові тварин ($M \pm m$, $n=6$)

| Тиждень спостереження | Інтенсивність поглинальної функції фагоцитів | | | Індекс перебігу фагоцитозу | | | Елімінуюча здатність крові, кл./мм ³ ×30 хв. |
|--------------------------------------|--|---------------|---------------|----------------------------|--------------|--------------|---|
| | 30 хв. | 60 хв. | 120 хв. | 30 хв. | 60 хв. | 120 хв. | |
| <i>1 дослідна група</i> | | | | | | | |
| 1 | 2,58±0,10* | 3,11±0,16** | 3,56±0,09*** | 0,56±0,02 | 0,62±0,01* | 0,68±0,02 | 9111±222* |
| 2 | 5,36±0,22*** | 13,24±0,44*** | 15,17±0,24*** | 0,57±0,02 | 0,62±0,02 | 0,69±0,01 | 9112±204** |
| 3 | 3,72±0,20** | 3,80±0,16 | 3,79±0,14*** | 0,58±0,03 | 0,62±0,02* | 0,69±0,02 | 9240±216** |
| <i>2 дослідна група</i> | | | | | | | |
| 1 | 2,96±0,16* | 4,26±0,12*** | 7,72±0,32*** | 0,58±0,02 | 0,62±0,02* | 0,68±0,02 | 9201±306* |
| 2 | 3,88±0,14** | 6,37±0,32** | 3,74±0,12 | 0,59±0,01 | 0,64±0,03* | 0,69±0,02 | 10200±482** |
| 3 | 4,30±0,22** | 7,25±0,36*** | 6,33±0,18*** | 0,62±0,01 | 0,65±0,01* | 0,72±0,03 | 10120±482** |
| <i>3 дослідна група</i> | | | | | | | |
| 1 | 6,61±0,22** | 13,39±0,44** | 12,79±0,44** | 0,64±0,02 | 0,67±0,02*** | 0,78±0,01** | 11020±302*** |
| 2 | 11,68±0,43*** | 12,22±0,32*** | 13,35±0,42*** | 0,64±0,02*** | 0,68±0,01*** | 0,78±0,03* | 10992±318*** |
| 3 | 8,24±0,24*** | 9,84±0,22*** | 17,14±0,36*** | 0,64±0,02*** | 0,68±0,01** | 0,81±0,03*** | 10890±322*** |
| <i>4 дослідна група</i> | | | | | | | |
| 1 | 4,98±0,12*** | 3,64±0,12*** | 3,38±0,09*** | 0,64±0,01*** | 0,68±0,02** | 0,76±0,01* | 9012±264* |
| 2 | 4,16±0,16*** | 4,34±0,16* | 5,60±0,12*** | 0,64±0,02*** | 0,67±0,03** | 0,74±0,01* | 10101±189*** |
| 3 | 4,71±0,22*** | 5,90±0,18*** | 8,32±0,22*** | 0,66±0,01** | 0,68±0,03* | 0,74±0,01* | 10403±204*** |
| <i>5 група (позитивний контроль)</i> | | | | | | | |
| 1 | 4,38±0,12*** | 5,92±0,11*** | 5,35±0,18*** | 0,60±0,01 | 0,62±0,02 | 0,70±0,02* | 9722±202*** |
| 2 | 5,79±0,18*** | 6,97±0,22*** | 5,64±0,12*** | 0,62±0,02* | 0,64±0,03* | 0,72±0,01* | 10120±264*** |
| 3 | 10,28±0,22*** | 7,71±0,22*** | 11,52±0,18*** | 0,64±0,01*** | 0,68±0,01*** | 0,76±0,01* | 10462±286*** |
| <i>6 група (негативний контроль)</i> | | | | | | | |
| 1 | 2,55±0,08 | 2,31±0,09 | 1,96±0,08 | 0,54±0,01 | 0,56±0,02 | 0,66±0,03 | 8304±112 |
| 2 | 2,72±0,09 | 4,90±0,12 | 4,02±0,18 | 0,56±0,01 | 0,57±0,02 | 0,64±0,03 | 8114±172 |
| 3 | 2,82±0,11 | 3,81±0,09 | 4,73±0,16 | 0,56±0,03 | 0,57±0,01 | 0,64±0,03 | 8206±186 |

Примітка: достовірні різниці у досліджуваних показниках у тварин дослідних груп порівняно з показниками у тварин 6 групи (негативний контроль): * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$

Після введення КП 3 елімінуюча здатність крові тварин упродовж дослідю виявилася вищою на 8–13 % порівняно з позитивним контролем і на 30–35 % — порівняно з негативним контролем, а інтенсивність поглинальної функції фагоцитів — на 6–11 % та 18–26 % відповідно.

Показники інтенсивності поглинальної функції фагоцитів, індексу перебігу фагоцитозу, елімінуючої здатності крові після введення КП 1 та КП 2 були вищими порівняно з негативним контролем, але нижчими за позитивний контроль.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що комплексний препарат № 3, розроблений на основі продуктів біосинтезу бактеріальної культури *Pseudomonas sp.* PS-17 та манану, виділеного з *Candida maltosa*, проявляє виражену антивірусну та стимулюючу дію на клітинну ланку імунітету тварин.

Перспективи подальших досліджень. Ці дослідження є частиною проекту 4973 Українського науково-технічного центру, спрямованого на створення комплексних препаратів з антивірусної активністю. Комплексний препарат на основі біокомплексу псевдомонад та дріжджового манану може бути рекомендований для розробки ветеринарних препаратів з антивірусною та імуномодулюючою активністю.

T. O. Bova

ANTIVIRAL AND IMMUNOMODULATOR ACTIVITY OF MICROBIAL ORIGIN COMPLEX PREPARATION

S u m m a r y

In the article the results of research of antiviral and immunomodulator activity of complex preparations of microbial origin is resulted. It was established that complex preparation developed on basis the biocomplex of pseudomonades and yeast manan shows the expressed antiviral activity and stimulant operating on the cellular link of animal immunity.

T. A. Бова

АНТИВИРУСНАЯ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНЫХ ПРЕПАРАТОВ МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А н н о т а ц и я

В статье приведены результаты исследования антивирусной и иммуномодулирующей активности комплексных препаратов микробного происхождения. Показано, что комплексный препарат, разработанный на основе биокомплекса псевдомонад и дрожжевого манана, проявляет выраженную антивирусную активность и стимулирующее действие на клеточное звено иммунитета животных.

1. Санин А. В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных / А. В. Санин // Рос. ж-л вет. медицины. — 2005. — № 1. — С.38–42.
2. Бокарев А. В. Критический анализ эффективности применения стимуляторов иммунитета при нервной форме чумы собак / А. В. Бокарев, А. В. Переверзева // Вет. практика. — 2000. — № 3. — С. 7–12.
3. Ожерелков С. В. Механизмы противовирусного действия фоспренила: принципы профилактики и лечения вирусных болезней / С. В. Ожерелков, Т. Н. Кожевникова // Ветеринарная клиника. — 2003. — № 1. — С. 21–25.
4. Ершов Ф. И. Антивирусные препараты: справочник (2-е изд.) / Ф. И. Ершов. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 192–225.
5. Бова Т. О. Скринінг речовин мікробного походження з антивірусною активністю *in vitro* / Т. О. Бова // Біологія тварин. — 2010. — Т. 12, № 2. — С. 503–507.
6. Спивак Н. Я. Антибактериальная эффективность препаратов интерферона и его индукторов / Н. Я. Спивак, Н. И. Грабченко, Л. Н. Лазаренко и др. // Микробиол. журнал. — 1999. — Т. 61, № 1. — С. 32–45.
7. Reed L. J. A simple method of estimating fifty per cent endpoints / L. J. Reed, H. Muench // Amer. J. Hyg. — 1938. — V.27. — P. 493–497.
8. Кост Е. А. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов / Е. А. Кост, М. И. Стенко // Клиническая гематология животных. — М. : Колос, 1974. — С. 99–100.
9. Лакин Г. Ф. Биометрия : 4-е изд. / Г. Ф. Лакин. — М. : Высшая школа, 1990. — 352 с.

Рецензент: завідувач лабораторії пробіотиків, кандидат ветеринарних наук Кравченко Н. О., Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії імунології, кандидат ветеринарних наук, с. н. с. Огородник Н. З.