

УДК 619.9:546.48

## ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДИОКСИНА И КАДМИЯ ХЛОРИДА НА ЕСТЕСТВЕННУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЖИВОТНЫХ

Вафин И.Ф. Папуниди К.Х., Новиков В.А.,

ФГУ Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных, г. Казань

Из большого количества загрязнителей окружающей среды антропогенного происхождения серьезную опасность представляют диоксины и тяжелые металлы [Новиков В.А. и др., 2002; Федоров, Л.А. 2000; Желтов В.А., 2005], которые в возрастающих масштабах поступают в биосферу, угрожая глобальным ее загрязнением.

Одним из факторов, увеличивающих опасность загрязненных кормов тяжелыми металлами, является возможное сочетание их с диоксином. Известны случаи отравления животных полихлорбифенилами с тяжелыми металлами. В то же время, в литературе мы не встретили данных о сочетанном воздействии диоксида и кадмия на организм животных, хотя вероятность таких поражений очевидна [Иванова Ю.В., 2004].

Целью настоящего исследования стало изучение сочетанного действия диоксида и кадмия хлорида на естественную резистентность животных.

**Материалы и методы.** Опыты проведены на 54 крысах, разделенных на 3 группы. Первая группа получала с кормом диоксин в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> (0,3 мкг/кг), вторая группа была подвергнута ежедневной пероральной заправке кадмия хлоридом в дозе 1/20 ЛД<sub>50</sub> (9мг/кг) в течение 30 дней. Третья группа получала одновременно диоксин и кадмия хлорид в вышеуказанных дозах.

До начала заправки, затем на 10-е, 20-е и 30-е сутки проводили гематологические исследования, включающие определение содержания эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов общепринятыми методами. Активность лизоцима в крови определяли нефелометрическим методом по Дорофейчуку В.Г. (1968), фагоцитарную активность нейтрофилов – по Кост С. А., Стенко М. И. (1974). Уровень Т-лимфоцитов в крови определяли методом спонтанного розеткообразования с гетерогенными эритроцитами (Е-РОК). Идентификацию В-лимфоцитов проводили методом ЕАС-розеток по Фримелю Г. (1987).

**Результаты исследований.** В первой группе, где крысам давали только диоксин, клинические признаки отравления отсутствовали.

Во второй группе, где животные получали кадмий, клинические признаки появились на 11 сутки заправки в виде общего угнетения, вялости, взъерошенности шерстного покрова, снижения аппетита, затрудненного дыхания, у некоторых наблюдалась рвота и диарея. На 19-е и 27-е сутки пало по одной крысе. Всего из 12 крыс пали 2, выжили 10 (6 крыс были убиты для проведения гематологических, биохимических и иммунологических исследований).

У животных, получавших одновременно диоксин и кадмия хлорид, клинические признаки проявились на 9 день заправки в виде общего угнетения, вялости, взъерошенности шерстного покрова, отказа от корма, слюнотечения, гнойных выделений из глаз и диареи. В дальнейшем у больных животных наблюдались одышка, потеря ориентации при передвижении. Масса тела на 30 сутки снизилась на 25 %. На 13 и 19 день пало по одной крысе, на 21, 22, 24 и 25 сутки по две крысы. Из 12 крыс пали 10 (83 %).

При отравлении белых крыс диоксином количество эритроцитов на 10-е и 20-е сутки уменьшилось на 19 и 26 %, гемоглобина – на 17 и 24 %, лейкоцитов – на 12 и 20 % соответственно.

У животных второй группы, получавших кадмий, содержание эритроцитов и гемоглобина к 30-ым суткам снижалось на 23 и 18 %, лейкоцитов – на 18 и 23 %.

При одновременном введении диоксида и кадмия хлорида наблюдалось снижение содержания эритроцитов на 20-е и 30-е сутки на 15 и 29 %, гемоглобина – на 12 и 20 %, лейкоцитов – на 23,7 и 28,8 %.

При введении животным 1/200 ЛД<sub>50</sub> диоксида фагоцитарная активность и фагоцитарное число на протяжении всего опыта существенно не изменялись. Фагоцитарный индекс и фагоцитарная емкость на 20 сутки снизились на 11 и 43 % соответственно. Активность лизоцима оставалась в пределах фонового уровня.

У белых крыс, получавших только кадмий, фагоцитарная активность снижалась на 20-е и 30-е сутки – на 15 и 24,5 %. Фагоцитарное число снизилось на 10, 20 и 30 сут на 20, 36,5 и 48%, фагоцитарный индекс – на 13, 22,6 и 27,5 %, фагоцитарная емкость – на 25,7, 47,8 и 63 %, активность лизоцима – на 12,2, 36,3 и 37 %.

У животных, получавших диоксин и кадмий, фагоцитарная активность на 20 и 30 сутки снижалась на 19 и 20 %, фагоцитарный индекс – на 22 и 23 %, фагоцитарное число – на 38 и 39,5 %. Фагоцитарная емкость снижалась на 10, 20 и 30 сут на 23,7; 51,7 и 56,5 %. Активность лизоцима на 20 и 30 сутки уменьшалась на 12 и 26 %.

В первой группе крыс количество Т-лимфоцитов колебалось на уровне фоновых величин, содержание В-лимфоцитов по сравнению с фоном снижалось на 20 и 30 день на 19 и 31 %.

У белых крыс второй группы количество Т-лимфоцитов снижалось на 30-е сутки на 22 %, В-лимфоцитов – на 30 %, в третьей группе содержание Т-лимфоцитов снизилось на 30-е сутки на 30 %; В-лимфоцитов – на 41,5 %.

**Заключение.** Ежедневное пероральное сочетанное введение белым крысам в течение 30 суток диоксида в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> и кадмия хлорида в дозе 1/20 ЛД<sub>50</sub> вызывает тяжелое отравление и гибель 83% животных, что свидетельствует о взаимно отягощающем их действии. При сочетанном отравлении крыс диоксином и кадмием наблюдалось потенцирование токсического эффекта, характеризующееся более выраженными гематологическими и биохимическими изменениями, чем при интоксикации животных этими ядами в отдельности.

Диоксин и кадмия хлорид при одновременном введении в течение 30 дней приводят к подавлению функций органов иммунной системы, которое проявляется снижением фагоцитарной способности нейтрофилов, понижением активности лизоцима, уменьшением количества Т- и В-лимфоцитов. Следовательно, диоксин и кадмий при сочетанном введении усугубляют токсическое действие друг друга, проявляя синергизм.

### Список литературы

1. Иванова, Ю.В. Нейрофизиологическая и гистологическая оценка комбинированного действия ПХБ и тяжелых металлов. / Токсикологический вестник. – 2004. – №6. – С. 6-11. 2. Желтов, В.А. Особенности диагностики отравлений животных диоксинами / В.А. Желтов // Вест.

С-х. животных. – 2005. – № 10. – С. 71-74. 3. Новиков, В.А. Тяжелые металлы – техногенный фактор воздействия на окружающую среду и животных / В.А. Новиков, А.В. Иванов, М.Я. Трemasов // Ветеринарный врач. – 2002. – № 4. – С.45-50. 4. Федоров, Л.А. За химическую безопасность / Федоров Л.А // Посев. – 2000. – №2. – С. 21-24.

**INFLUENCE THE DIOXIN AND CADMIUM OF THE CHLORIDE ON NATURAL RESISTANCE OF ANIMAL**

**Vafin I.F., Papunidi K.Kh., Novikov V.A.**

*Federal Center of Toxicological and Radiotional Safety of Animals, Kazan*

*Peroralinoe daily introduction white rat during 30 day dioxin in dose 1/200 LD50 and cadmium of the chloride in dose 1/20 LD50 causes heavy poisoning and ruin 83% animal.*

УДК 619:616.98:578.831:616-078.33.

**ИММУНОГЕННОСТЬ МУКОЗАЛЬНЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ**

**Волкова М.А., Рунина И.А., Ирза А.В., Чвала И.А., Фролов С.В., Долгов Д.Л.,**

**Чубукова Е.И., Борисов В.В., Мудрак Н.С., Дрыгин В.В.**

*ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», ФГУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия*

В настоящее время в промышленном птицеводстве для профилактических целей широко используются живые и инактивированные вакцины, которые значительно снижают клиническое проявление многих инфекционных болезней птиц. В плане повышения эффективности и упрощения техники применения иммунологических препаратов в последние годы разрабатываются новые типы вакцинных препаратов. Одним из перспективных направлений являются мукозальные вакцины, главными компонентами которых являются специфический антиген и природные или синтетические вещества, обладающие мукоадгезивной активностью, вводимые интраназально или перорально. В качестве мукозальных адьювантов с положительным результатом испытывались такие вещества как – хитозан, являющийся природным биополимером и частицы фосфата кальция, представляющие из себя неорганическую конструкцию (САР) [3, 4]. Мукозальные вакцины обладают дополнительными свойствами по сравнению с традиционными вакцинами, так как они индуцируют и местную защиту слизистых оболочек, и системный иммунитет [2, 3, 4]. Эффективность мукозальных вакцин можно оценить в экспериментальных условиях с использованием серологических методов и по защите птиц от контрольного заражения.

Целью нашей работы было изучение иммунного ответа цыплят после интраназального введения вакцинных препаратов против ньюкаслской болезни (НБ), содержащих в качестве адьювантов САР-частицы и хитозан и их защиты при контрольном заражении высоковирулентным вирусом НБ в разные сроки после иммунизации.

**Материалы и методы.** *Вакцины.* В качестве специфического антигена использовали инактивированный и концентрированный ультрацентрифугированием вирус НБ штамм «Ла Сота», полученный культивированием в 9-11 суточных эмбрионах СПФ-кур (АГ ВНБ). Концентрация АГ ВНБ, определенная в блокирующем варианте иммуноферментного анализа, составляла не менее 1:4096.

Было изготовлено 3 вакцинных препарата. Приготовление мукозальных адьювантов, наночастиц фосфата кальция и хитозана для использования в составе вакцин проводили по методикам, описанным Qing He et al. (2002) [3] и A. Vila et al. (2004) с некоторыми модификациями [4].

Третий вакцинный препарат готовили простым смешиванием равных объемов антигена вируса НБ и фосфатно-буферного раствора (ФБР).

Последовательность в компоновке вакцинных препаратов осуществляли в соответствии с вышеописанными методиками, но с таким расчетом, чтобы количество АГ ВНБ в прививном объеме (0,2 см<sup>3</sup>) было одинаковым для всех конструкций препаратов.

*Эксперимент на животных.* Были сформированы 4 опытные группы из 20-суточных цыплят по 25 голов в каждой. Цыплят 1-3 опытных групп иммунизировали интраназально трёхкратно с интервалом в 5 сут образцами вакцин в объеме 0,2 см<sup>3</sup>. Цыплята 4 группы оставались интактными и служили в качестве отрицательного контроля. Отбор проб сывороток крови и секреторных жидкостей (трахеальных смывов и слезной жидкости) от цыплят проводили до иммунизации и через 2, 4, 6 и 8 недель после последней (третьей) иммунизации. Контрольное заражение цыплят высоковирулентным изолятом вируса НБ Сk/Rus/Amursky/1057/06 с индексом интрацеребральной патогенности (ICPI), равным 2,0, проводили через 1, 2, 3 и 4 недели после 3 вакцинации. Заражение цыплят проводили путём внутримышечного введения в область бедра вирусосодержащей суспензии с титром 6,0 lg ЭИД<sub>50/см<sup>3</sup></sub> в объеме 0,5 см<sup>3</sup>.

*Непрямой вариант ИФА.* ИФА для определения титра иммуноглобулинов классов А, М и G в сыворотках крови и секреторных жидкостях цыплят проводили по общепринятой схеме с небольшими модификациями [1]. Титр антител в испытуемых пробах определяли по конечной точке титрования.

*Реакция торможения гемагглютинации (РТГА).* РТГА проводили с использованием коммерческого набора для выявления антител к вирусу НБ в РТГА (ФГУ «ВНИИЗЖ») согласно инструкции по применению. За положительный уровень антител к вирусу НБ принимали разведение сыворотки, равное 4 log<sub>2</sub> и выше.

**Результаты и обсуждение.** Изучали влияние на иммунный ответ у цыплят САР-частиц и частиц на основе хитозана, используемых в качестве мукозальных адьювантов при введении с инактивированным вирусом НБ.

Иммуногенную и протективную активность мукозальных вакцинных препаратов исследовали комплексно с использованием двух серологических тестов и проведения контрольного заражения. Для более полной характеристики эффективности таких вакцин исследовали три вида проб биологического материала: сыворотки крови, трахеальные смывы и слезную жидкость.

В табл. 1 представлены результаты исследования сывороток крови в РТГА, из которых следует, что у цыплят, иммунизированных мукозальными вакцинными препаратами, максимальное количество специфических антител выявляли через 2 недели, а у иммунизированных антигеном с ФБР – через 4 недели после вакцинации. В группе цыплят, вакцинированных препаратом с хитозаном, количество положительных проб было выше, чем в группах, вакцинированных препаратом с САР-частицами и антигеном без адьюванта в течение всего срока наблюдения.