

Розділ 2. Загальні питання та новітні методи в біотехнології

УДК 591.85:616.99

ВИВЧЕННЯ МУТАГЕННОЇ АКТИВНОСТІ СЕКРЕТОРНО-ЕКСКРЕТОРНИХ ВИДІЛЕНЬ *PARASCARIS EQUORUM* У ТЕСТІ ЕЙМСА З ВИКОРИСТАННЯМ ТЕСТ-ШТАМІВ *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

Винярська А.В.¹, Стибель В.В.¹, Куцан О.Т.²

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, м. Львів

²Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Найбільш розповсюдженим паразитом свійських коней віком до двох років в Україні є нематода *Parascaris equorum*. Дорослі тварини є лише носіями цієї інвазії. Параскароз коней викликаний імагінальною та личинковою формами нематоди.

Розповсюдження основних видів паразитів коней в Україні досліджували ще з 40-х років ХХ сторіччя [1, 4, 6, 14, 15]. Дослідження, проведені науковцями про взаємовідносини у системі хазяїн-паразит, містило вивчення фізіологічних специфічних та неспецифічних захисних механізмів хазяїна з одного боку та механічний, алергічний і токсичний вплив паразита – з іншого. До специфічних захисних механізмів організму хазяїна відноситься поява антитіл, а до неспецифічних – бар'єри кишкової стінки, печінки, бар'єрні функції лімфатичної системи, формування паразитарних вузлів у внутрішніх органах та тканинах, фагоцитарні функції лімфоцитарної системи, еозинофілію, алергічні запалення в органах і тканинах. Токсичні властивості гельмінтів коней вивчали на прикладі параскарид [1], деляфондій. Зажиттєві виділення личинок гельмінтів знижують реактивність організму, впливають на нервову систему, кров, ретикуло-ендотеліальну (мононуклеарну систему фагоцитозу) та інші системи.

Ці дослідження стали основою для розробки заходів діагностики, профілактики та лікування кишкових нематодозів коней. Вивчення системи хазяїн-паразит досі базується на досвіді попередників та глибокому аналізі впливу агентів навколишнього середовища. Результати наукових досліджень, опубліковані за останні десять років, свідчать про те, що існує взаємодія між хімічними, фізичними та біологічними факторами, які відіграють важливу роль пускового механізму та виникненням хромосомних аберацій у каріотипі коней.

Матеріалом для передачі генетичної інформації в організмі є ДНК. Випадіння, вставка, заміна цілого нуклеотиду або триплету в ДНК призводить до зміни генетичного коду. Процес виникнення спадкових змін впливає на організм, його ознаки і властивості успадковуються поколіннями. Мутації розрізняють спонтанні та індуковані. Останні виникають під впливом різних мутагенів [8]. До недавня увага акцентувалась на фізичних та хімічних чинниках. Сучасні дослідження вказують про вплив біологічних факторів на виникнення, тобто індукцію мутацій. Зокрема, про це свідчать дослідження впливу метаболітів гельмінтів на геном у тесті Еймса [11, 12, 13]. Крім того, було встановлено, що гомогенат аскарисів, їх прижиттєвих виділень та гомогенат інвазійних яєць у нативній концентрації індукують генні мутації.

Сучасні наукові дослідження вказують, що гельмінти є промоторами канцерогенезу. Негенотоксичні канцерогени можуть викликати: промоцію спонтанної ініціації, цитотоксичність із стійкою аплітінною проліферацією, тобто мітогенний ефект, оксидативний стрес, утворення комплексу канцероген-рецептор, гальмування апоптозу, порушення міжклітинних контактів. Розмежування генотоксичних та негенотоксичних канцерогенів є ускладненим через незнання механізмів канцерогенезу у кожному окремому випадку [3].

У роботах Н.Н. Ільїнських та ін. [7] встановлено, що паразити викликають порушення у структурі хромосом клітин людини та тварин. За цих умов, мутагенні зміни можуть виникати опосередковано, оскільки відсутній безпосередній контакт патогену з ядерними структурами, за рахунок екскретів та секретів гельмінтів.

Науково доведено, що мутагенним впливом на генетичний апарат володіють метаболіти шистосом, аскарисів, трихінел, волосоголовців, гіменолепісів, фасціол та ін. [2, 10]. Зокрема, при опісторхозі найчастіше пошкоджуються 2, 3 та 6 хромосоми. У 3-ій хромосомі порушення локалізуються в зоні p14-p25. Саме в сайті p25 знаходиться онкоген *gaf-I*. Транслокаційні зміни цієї ділянки супроводжують змішаний рак щитовидної залози, а делецію – дрібноклітинний рак легень. У 6-ій хромосомі пошкодження зосереджені в ділянці q21-q25, де локалізований ген *myb* та онкоген *yes*. Можливо, специфічність пошкодження хромосомного набору обумовлена генотоксинами опісторхиса [7, 17].

На даний час, експериментально доведено, що тварини, які не були інфіковані аскарозою інвазією, тобто є несенсибілізовані, легко, без помітних клінічних проявів, переносять великі кількості аскарид, введених підшкірно, внутрішньочеревинно, перорально та безпосередньо у кров. Після первинної ін'єкції 4-5мл свіжої рідини аскарид у морських свинок, кроликів, поросят та лошаг виражена реакція відсутня. Однак, якщо піддослідні тварини були сенсибілізовані малою кількістю рідини аскарид, а після закінчення інкубаційного періоду (2-3 тижні) повторно їм ввели рідину чи емульсію із тканин аскариди, то у тварини, як правило, виникає анафілактичний шок, а морські свинки через 3-5 хвилин гинуть. Це дає підстави для наукових досліджень каріотипу тварин, сенсибілізованих аскаридою інвазією та встановлення або виключення змін.

На основі чисельних літературних даних також відомо, що гельмінти продукують ферменти, пептидні гормони, білки, кислоти, гормони, токсичні аміни тощо. Деякі автори підкреслюють, що секрети нематод складаються з ферментів і продуктів

Розділ 2. Загальні питання та новітні методи в біотехнології

їх метаболізму, які в загальному відомі як екскреторно-секреторні антигени, що виділяються із анального або ротового отворів гельмінта і містять протеолітичні ферменти з антикоагулятивними властивостями, а також ацетилхолінестеразу, амілазу, протеїнази, РНК-азу, ДНК-азу та інші ферменти, які виділяються у просвіт кишечника хазяїна і можуть впливати на нього [5, 9, 18, 19, 20].

Власне тому, встановлення можливості індукції мутагенезу секреторно-екскреторними продуктами гельмінтів складає особливе зацікавлення. Проведення досліджень у цьому напрямку є актуальним і має практичне та теоретичне значення при вивченні геному коней. Дані дослідження є одним з фрагментів дисертаційної роботи.

Метою роботи було встановлення мутагенної дії екскреторно-секреторних продуктів та інвазійних яєць нематоди *Parascaris equorum* на генному рівні з використанням тест-штамів. Останні здатні встановлювати дію мутагену, що викликає мутації типу зсуву рамки зчитування генетичного коду та типу заміни пар основ.

Матеріали і методи досліджень. Для вивчення мутагенної дії секреторно-екскреторних продуктів життєдіяльності *Parascaris equorum* використовували метод B.N. Ames et al. (1975) [8, 16]. Це один з основних напівкількісних методів встановлення мутагенності. Принцип методу полягає у реєстрації здатності агента, що досліджується або його метаболітів індукувати генні мутації *in vitro* у тест-штамах *Salmonella Typhimurium* TA-98 (his D 3052, rfa, Δuvr B, +R), TA-100 (his G 46, rfa, Δuvr B, +R). Штам TA-98 реєструє дію сполук, які викликають мутації типу зсуву рамки зчитування генетичного коду. Штам TA-100 здатний виявляти попередній мутагенний ефект та ефект речовин, що індукують мутації типу заміни пар основ. Наявність мутагенного ефекту враховували за індукцією обернених мутацій від аукоотрофності за гістидином до прототрофності. Суть методу полягає в реєстрації здатності речовини, що досліджується, та її метаболітів індукувати реверс-мутації від аукоотрофності до прототрофності за гістидином у тестерних штамів *S. Typhimurium*, які несуть his- мутації і не здатні синтезувати гістидин. Бактерії *S. Typhimurium* разом з речовиною, яка досліджується, а також постмітохондріальним супернатантом гомогенату печінки шурів (фракція S-9) та Ко-факторами (NAD⁺, глюкозо-6-фосфат) вносять у шар «верхнього» напіврідкого агару на Чашки Петрі. Під впливом ферментів мікосомального окиснення, які містяться у фракції S-9, речовина може підлягати процесу біотрансформації з утворенням ряду метаболітів. Як сама речовина, так і її метаболіти, якщо вони мають мутагенну активність, індукують мутації у мікроорганізмів. Штами вирощували в термостаті за температури t+37 °C на повноцінному середовищі: м'ясо-пептидному бульйоні (МПБ) і м'ясо-пептидному агарі (МПА, МПБ+1,5-2,0 % агару). Вказані середовища стерилізували в автоклаві при 0,5 атм. 30 хв. (рН середовища після стерилізації 7,0). Гомогенати готували із гельмінтів, відібраних із кишечника, шляхом заморожування і наступного подрібнення у водно-сольовому розчині за допомогою гомогенізатора Поттера (5000 об/хв при t+4 °C) з тефлоновим товчачиком. Для одержання екскреторно-секреторних метаболітів дорослі гельмінти та інвазійні яйця аскарисів інкубували в стерильному ізотонічному розчині натрію хлориду у термостаті за температури t+30 °C (9 діб). Екстракти гомогенатів гельмінтів і продукти виділення стерилізували через фільтр Зейтца.

Результати досліджень. При визначенні мутагенної активності загального гомогенату параскарисів (табл. 1) дослідження проводились у трьох концентраціях – нативній, кратно зменшеній у 10 і 100 разів. На штамів TA-98, так і TA-100 нативна концентрація індукувала реверсію в 3-5 рази вищу, ніж у контрольній групі. При розведенні гомогенату у 10 разів індукція генних мутацій виявлена лише на штамі TA-98.

Таблиця 1 – Мутагенна активність загального гомогенату параскарисів у тесті Еймса

Зразок	Тест-штам	Позитивний контроль	Розведення	Кількість колоній ревертантів			\bar{X}	$\frac{X_p}{X_k}$	Мутагенність (бали)
				X ₁	X ₂	X ₃			
Заг. гомогенат параскарисів	TA-98	Дауноміцин	6 мкг/чашку	302	295	325	307,3±9,06	14,2	2
			спонтанний рівень ревертантів	16	27	22	21,7±3,2		
			1	106	98	122	108,7±7,06	5,0	1
			0,1	68	76	80	74,7±3,53	3,4	1
			0,01	42	31	28	33,7±4,26	1,6	0
	TA-100	азид Na	1,5 мкг/чашку	702	784	748	744,6±23,73	13,9	2
			спонтанний рівень ревертантів	45	54	61	53,3±4,63		
			1	165	148	122	145,0±12,5	2,7	1
			0,1	98	103	112	104,3±4,09	1,9	0
			0,01	78	84	92	84,6±4,06	1,6	0

При визначенні мутагенності прижиттєвих виділень параскарисів (табл. 2) індукція реверсій виявлена у двох концентраціях на штамі TA-98, а на штамі TA-100 мутагенність встановлена лише при нативній концентрації прижиттєвих виділень. За цих умов, перевищення кількості колоній у досліджах над контролем коливалась у межах 2-3 разів.

Це вказує на те, що біологічні речовини, які виділялися параскарисами, мають здатність впливати на геном бактерій та спричиняти генні мутації як за механізмом зсуву рамки зчитування, так і за механізмом пар основ.

При визначенні мутагенної активності гомогенату інвазійних яєць параскарисів нами виявлено (табл. 3), що у 100 % випадків зразки показали індукцію генних мутацій при нативній концентрації на штамів TA-98 і TA-100. Це вказує на те, що виділення яєць і їх вміст містять біологічно активні речовини, які здатні спричиняти мутації за типом заміни пар основ при збереженні мутагенності на рівні 1 бала.

Отже, виходячи з результатів досліджень у тесті Еймса встановлено, що екскреторно-секреторні виділення параскарисів, а також гомогенати нематод та інвазійних яєць проявляють мутагенну дію і можуть індукувати зворотні генні мутації до гістидин незалежності в штамів *S. Typhimurium* TA-98 і TA-100 за типом зміщення рамки зчитування, та типом заміни пар основ.

Таблиця 2 – Мутагенна активність прижиттєвих виділень параскарисів у тесті Еймса

Зразок	Тест-штам	Позитивний контроль	Розведення	Кількість колоній ревертантів			\bar{X}	$\frac{X_d}{X_k}$	Мутагенність, бали
				X_1	X_2	X_3			
Прижиттєві виділення параскарисів	ТА-98	Дауноміцин	6 мкг/чашку	252	278	244	258,0±10,26	14,3	2
			спонтанний рівень ревертантів	18	16	20	18,0±1,15		
			1	52	48	40	46,7±3,53	2,6	1
			0,1	31	42	52	41,6±6,06	2,3	1
			0,01	22	18	23	21,0±1,53	1,2	0
	ТА-100	азид Na	1,5 мкг/чашку	692	674	648	671,3±12,77	12,1	2
			спонтанний рівень ревертантів	51	62	53	55,3±3,38		
			1	102	112	128	114,0±7,57	2,06	1
			0,1	62	74	82	72,7±5,81	1,3	0
			0,01	52	67	54	57,6±4,70	1,0	0

Таблиця 3 – Мутагенна активність гомогенату інвазійних яєць параскарисів у тесті Еймса

Зразок	Тест-штам	Позитивний контроль	Розведення	Кількість колоній ревертантів			\bar{X}	$\frac{X_d}{X_k}$	Мутагенність (бали)
				X_1	X_2	X_3			
Гомогенат інв. яєць параскарисів	ТА-98	дауноміцин	6 мкг/чашку	306	284	292	294,0±6,43	11,9	2
			спонтанний рівень ревертантів	24	22	28	24,7±1,73		
			1	73	56	64	64,3±4,91	2,6	1
			0,1	59	44	51	47,7±1,86	1,9	0
			0,01	31	35	27	31,0±2,31	1,3	0
	ТА-100	азид Na	1,5 мкг/чашку	621	589	613	607,7±9,61	12,9	2
			спонтанний рівень ревертантів	42	51	48	47,0±2,65		
			1	211	198	177	195,3±9,91	4,2	1
			0,1	92	86	104	94,0±5,29	1,9	0
			0,01	61	72	56	63,1±4,73	1,3	0

Висновки. 1. Мутагенна активність гомогенату параскарисів у нативній концентрації у тест-штамах *S. Typhimurium* ТА-98 і ТА-100 індукувала реверсію у 3-5 разів вищу, ніж у контрольній групі. При розведенні гомогенату у 10 разів індукція генних мутацій виявлена лише на штамі ТА-98.

2. Мутагенна активність прижиттєвих виділень параскарисів індукувала реверсії як у нативній концентрації, так і при розведенні у 10 раз на штамі ТА-98, а на штамі ТА-100 мутагенність встановлена лише при нативній концентрації прижиттєвих виділень.

3. Мутагенна активність гомогенату інвазійних яєць параскарисів індукувала генні мутації при нативній концентрації на штамі ТА-98 і ТА-100.

Список літератури

1. Антипин, Д.Н. 1946. Параскаридоз лошадей. Дисс.М. 2. Бекиш, Вл.Я., Бекиш, О.-Я.Л. Состояние генома хозяина при гельминтозах.- Витебск.- Изд. ВГМУ.-2004.-218 с. 3. Давыдов, О.Н., Исаева Н.М., Темниханов Ю.Д. Паразиты как инициаторы и/или промоторы канцерогенеза// Вестник зоологии. 2004. -№18. - С. 29-32. 4. Двойнос, Г.М., Харченко В.А. Стронгилиды домашних и диких лошадей. — К.: Наукова думка, 1994. — 234 с. 5. Дрюченко, Е.А. Образование кадаверина у некоторых представителей гельминтов рыб в печени и кишечнике их хозяев. — В кн.: Гельминтозы в пресноводных биоценозах. -М.: Наука. - 1982. — С. 81-85. 6. Ивашкин, В. М., Двойнос, Г. М. Определитель гельминтов лошадей. — Киев: Наук. думка, 1984. — 162 с. 7. Ильинских, Н.Н., Ильинских, И.Н., Бочаров, Е.Ф. Цитогенетический гомеостаз и иммунитет. — Новосибирск: Наука, 1984. — 256с. 8. Коцюмбас, І.Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів [Книга]. - Львів : Тріада плюс, 2006. — 360 с. 9. Сопрунов, Ф.Ф. Молекулярные основы паразитизма. — М.: Наука, 1987. — 223с. 10. Стилель, В.В. Изменения в наследственном аппарате свиней при аскаридозной инвазии // Совр. пробл. общей, мед. и ветерин. паразитологии (Тр. IV Международ. науч.- практич. конф.).- Витебск, 2004. — С. 73-75. 11. Стилель, В.В. Вивчення мутагенної дії *Trichuris suis* в тесті Еймса // Вісник зоології. — Севастополь-Ласпі, 2005. — Вип. 19, ч. 2. — С. 327-329. 12. Стилель, В.В. Визначення мутагенної активності *Oesophagostomum dentatum* в тесті Еймса // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин УААН і Державного науково-дослідного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. — Львів, 2005. Вип. 6, № 2. — С. 207-211. 13. Стилель, В.В. Оцінка мутагенної дії *Ascaris suum* в тесті Еймса // Проблеми екології ветеринарної медицини Житомирщини. — Житомир, 2005. —С.172-175. 14. Тваринництво України — 2009 рік. Розділ 2.20: Поголів'я коней у всіх формах власності.// Держкомстат України. — 2009. 15. Чеботарев, Р. С. Комплексний метод боротьби з паразитами сільськогосподарських тварин. — К., 1953. — 192 с. 16. Фонштейн, Л.М., Абишев, С.К. Методические рекомендации по применению теста Эймса *Salmonella* (микросомы).-М.: Изд-во МЗ СССР, 1983.-21с. 17. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans // Biennial Report (1994-1995). — 1995. -61. — 270 p. 18. Eliser, B., Scibinski, R.I., Crimes, S. Method for immunization against and treatment ofinfection by ectoparasites and endoparasites //

Aphton. Corp. No 96695 Pat. 48412119USA 02.01.90. 19. Lee, D.L., Atkinson, H.I. The physiology of nematodes. 2-nd edition. - Mac/Millan Press Ltd., London and Basingstoke, 1976. – 215 p. 20. Miller, H. The protective mucosal response against gastrointestinal nematodes in ruminants and laboratory animals. – Advances in veterinary immunology. 1983. ELSEVIER. – Amsterdam – Oxford – New York – Tokyo, 1984.

STUDY OF MUTAGENIC ACTIVITY OF PARASCARIS EQUORUM SECRETORY-EXCRETORY EXCRETIONS IN THE AMES TEST USING TEST-STRAINS SALMONELLA TYPHIMURIUM

Vynyarska A.V.¹, Stybel V.V.¹, Kucan O.T.²,

¹Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj

²National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»

It is set, that excretory-secretory excretions of Parascaris, and also homogenat of helminths and infective eggs shows the mutagene action and can induce the genes mutations both after the mechanism of frameshift and by replacement of pair of bases.

УДК 619:577.16:577.18.612-083:615.36:616-084

**НОВИЙ КЛАС ІМУНОТРОПНИХ ТА АД'ЮВАНТНИХ ПРЕПАРАТІВ
ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ЗАХВОРЮВАНЬ У ТВАРИН**

Влізло В.В., Віщур О.І.

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Для нормалізації процесів обміну речовин та функції імунної системи використовують біологічно активні препарати, до яких відносять імуномодулятори. За останні роки значне зацікавлення становлять імуномодулятори, застосування яких посилює специфічний захист тварин. Проте в Україні спостерігається незадовільний стан з використанням ад'ювантів, оскільки в умовах імунодефіциту тварин, особливо у молодняку з синдромом імунологічної супресії, вони є недостатньо ефективними. Тому застосування тваринам у ранньому віці імуномодулюючих препаратів, що забезпечують прискорене формування повноцінної імунної відповіді, є важливим заходом підвищення резистентності.

У попередніх наших роботах показано стимулювальний вплив відомих імунотропних лікарських засобів («Тимогену», «Тим-аліну», «Левамізолу») на резистентність у молодняку тварин, їх використання в якості ад'ювантів [1-4]. Однак, як свідчать результати наших досліджень, а також інших авторів, вони виявляють короточасну дію і повністю не забезпечують формування метаболічних умов повноцінної імунної відповіді. До того ж їх використання неперспективно через побічну дію цих препаратів та їх метаболітів на організм тварин. Разом з тим, одним із можливих механізмів, які лімітують формування імунної відповіді за умов вакцинації, є інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення, що сприяє зниженню неспецифічної резистентності тварин і виникненню імунодефіцитів. З цих позицій, актуальним у системі заходів профілактики інфекційних захворювань тварин, є розробка таких препаратів, які будуть поєднувати ад'ювантні та антиоксидантні властивості. Застосування таких препаратів при проведенні імунізації дасть можливість оптимізувати метаболічні процеси в організмі тварин та підвищити формування напруженості поствакцинального імунітету. За результатами теоретичних і експериментальних досліджень в Інституті біології тварин НААН сформульовано і розроблено принципову схему рецептур нового класу комплексних імунопротекторних препаратів призначених для підвищення імунного потенціалу та профілактики захворювань у тварин [5, 6]. Такий підхід був нами реалізований при розробці імуномодулюючого препарату «Антоксан» [7, 8].

Разом з тим, більш безпечним для підвищення імунного потенціалу тварин є застосування вітамінів, мінеральних речовин та інших адаптогенів, що підвищують захисні та пристосувальні механізми їх організму до дії патогенних чинників. Проте і ці засоби мало використовуються в тваринництві з різних причин: більшість з них дефіцитні й нетехнологічні для використання в умовах господарств; швидко метаболізуються і виводяться з організму. Тому найбільш надійним, ефективним і екологічно безпечним способом профілактики захворювань тварин поряд з селекцією резистентних порід, типів і ліній є розробка комплексних препаратів у вигляді ліпосомальних емульсій. Ці препарати дозволяють поєднати в одній ін'єкції діючі речовини з різними фізико-хімічними властивостями, запобігають швидкому перетворенню і зв'язуванню діючих речовин печінкою, забезпечують пролонговану їхню циркуляцію в крові. У зв'язку з цим, нами розроблено і впроваджено в практику ветеринарної медицини новий комплексний препарат у вигляді ліпосомальної емульсії «Ліпоген» [9, 10].

Метою наших досліджень було теоретично обґрунтувати і дослідити вплив нових комплексних імунотропних препаратів «Антоксан» і «Ліпоген» для підвищення імунного потенціалу, антиоксидантного захисту та формування напруженості поствакцинального імунітету в сільськогосподарських тварин.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводились на клінічно здорових телятах чорно-рябої молочної породи та поросятах великої білої породи. Апробацію і впровадження отриманих результатів досліджень проведено в господарствах Львівської, Волинської та Хмельницької областей.

У досліді на телятах вивчали вплив розробленого комплексного препарату «Антоксан», що містить селен, β-каротин та інтерферон, на формування імунної відповіді та окремі біохімічні показники в крові телят при вакцинації. Дослід проведено на трьох групах телят 30-денного віку, аналогів за віком, масою тіла та фізіологічним станом, в одному із господарств Львівської області. У 30-денному віці телятам контрольної групи внутрішньом'язово вводили вакцину проти колібактеріозу, згідно настанови з її застосування. Телятам 1- і 2-ї (дослідних) груп при цьому разом з вакциною вводили імуномодулятор «Антоксан» у дозі 1 мл/10 кг маси тіла. Через 14 днів проводили другу імунізацію тварин контрольної та 1-ї дослідної груп. При цьому телятам 1-ї дослідної групи разом з вакциною вводили антоксан у вказаній дозі, а телятам 2-ї дослідної групи – тільки антоксан. Для досліджень від телят одержували кров з яремної вени перед вакцинацією у 20-денному віці, після вакцинації – у 30-денному віці та після другої імунізації – у 50-денному віці.

Віншому досліді вивчали вплив розробленого нами препарату «Ліпоген» на імунний статус і біохімічний профіль крові поросят після відлучення від свиноматок. Дослід проведено в одному із господарств Буського району Львівської області на двох групах відлучених поросят 30-денного віку (контрольна дослідна), по 5-7 тварин у кожній. Поросят дослідної групи в день відлучення внутрішньом'язово одnorазово вводили препарат «Ліпоген» з розрахунку 0,2 мл/кг маси тіла, а контрольної – ізотонічний розчин натрію хлориду. Кров досліджували у день відлучення, а також на 3-, 5- і 14-й дні після відлучення.