

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.

У виконанні роботи використовували клінічні, біохімічні (спектрофотометричні, хроматографічні), фізіологічні (дослідження росту та розвитку телят і поросят), імунологічні (радіальна імунодифузія, визначення клітинних і гуморальних показників імунітету), гематологічні, цитоморфометричні та статистичні методи досліджень.

Результати досліджень. У результаті проведених досліджень встановлено стимулювальний вплив комплексного препарату «Антоксан» на формування клітинного компаркменту імунної системи у телят при вакцинації проти колибактеріозу. Введення препарату телятам дослідних груп спричиняє зростання кількості малорецепторної популяції загальних Т-лімфоцитів ($p < 0,05$), середньорецепторних Т-хелперів ($p < 0,05$) та збільшення їх функціональної активності в реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) з ФГА ($p < 0,05-0,01$). При введенні телятам вакцини разом з антоксаном у крові збільшується кількість В-лімфоцитів з середньою і високою щільністю рецепторів ($p < 0,05$). Таким чином, під впливом антоксану в організмі телят прискорюється дозрівання, диференціація та спеціалізація Т- і В-лімфоцитів. Такий висновок узгоджується з результатами досліджень інших авторів [11], про підвищення продукції Т- і В-лімфоцитів в організмі тварин при введенні їм селену, що зумовлено посиленням утворенням α - і β -субодиниць високоафінних рецепторів інтерлейкіну-2. При цьому особливе значення при формуванні поствакцинального імунітету має зростання функціональної активності В-лімфоцитів, як попередників плазматичних клітин, які продукують антитіла.

Парентеральне введення телятам препарату «Антоксан» при їх вакцинації проти колибактеріозу спричиняє збільшення вмісту IgG_2 ($p < 0,05-0,01$) і IgM ($p < 0,05$) та підвищення активності глутатіонпероксидази ($p < 0,05-0,01$), а також зменшення вмісту малонового діальдегіду ($p < 0,05$) в крові, що свідчить про стимулювальний вплив препарату на показники імунної та антиоксидантної систем організму. У сироватці крові телят обох дослідних груп зростає рівень циркулюючих імунних комплексів ($p < 0,05$), підвищується бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові ($p < 0,05-0,01$) та титр специфічних антитіл ($p < 0,05$). Зростання бактерицидної активності сироватки крові телят можна пояснити збільшенням кількості імуноглобулінів, які проявляють опсонізуючу дію на бактерії, зв'язують і активують комплемент [12], сприяють індукції інтерферону [13] та синтезу лізоциму [14]. Отже, антоксан знижує реактогенність вакцини, стимулює природну резистентність, нормалізує процеси пероксидного окиснення ліпідів організму телят.

Загалом, одержані результати свідчать, що телята, яким вводили антоксан разом з вакциною, мають підвищений потенціал специфічного захисту проти інфекційних захворювань. Введення телятам вакцини й антоксану призводить до посилення антитілоутворення та скорочення індуктивної фази антитілогенезу. Ці властивості можна пояснити здатністю селену, β -каротину та інтерферону, що входять до складу препарату «Антоксан», стимулювати проліферативні процеси в лімфоїдній тканині.

Враховуючи те, що у поросят після відлучення виникають шлунково-кишкові та респіраторні захворювання з невизначеною етіологією, актуальною є проблема розробки ефективних комплексних препаратів, які б об'єднували антибактеріальні, проти-запальні, антиоксидантні та інші властивості.

У зв'язку з цим, нами було досліджено вплив розробленого нами комплексного ліпосомального препарату «Ліпоген» на імунний та антиоксидантний статус поросят після відлучення від свиноматок. Проведені дослідження показали, що введення поросят при відлученні від свиноматок комплексного ліпосомального препарату «Ліпоген» спричиняє підвищення активності системи антиоксидантного захисту організму. Внаслідок цього зменшується утворення продуктів пероксидного окиснення ліпідів, що позитивно впливає на імунний гомеостаз в організмі поросят за дії стрес-факторів, якими є відлучення від свиноматок, перегрупування і зміни годівлі. При цьому в крові поросят вірогідно підвищується загальна кількість Т-лімфоцитів і зростає їх авідність ($p < 0,05$), а також збільшується кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів із низькою щільністю рецепторів ($p < 0,05$), В-лімфоцитів з низьким та високим ступенем авідності ($p < 0,05-0,01$). Водночас ліпоген проявляє стимулювальний вплив на функціональну активність Т-лімфоцитів, про що свідчить збільшення бластної трансформації лімфоцитів крові поросят ($p < 0,05-0,01$).

Нами встановлено також підвищення лізоцимної ($p < 0,05$) та бактерицидної ($p < 0,05-0,01$) активності сироватки крові та зниження рівня циркулюючих імунних комплексів ($p < 0,05$) у крові відлучених поросят, яким вводили ліпоген, що ймовірно зумовлено дією антибіотика гентаміцину, який володіє бактерицидними і бактериостатичними властивостями, а також корегуючим впливом вітамінів А і Е на вільнорадикальні процеси в організмі поросят.

Введення поросят перед відлученням від свиноматок ліпогену призводить до збільшення трансформаційної та функціональної активності гематогенних попередників макрофагів ($p < 0,05-0,01$), перетравної здатності фагоцитів та зростання оксидоредуктазного потенціалу фагоцитуючих клітин у НСТ-тесті ($p < 0,05$), що можна пояснити антиоксидантною дією вітамінів А і Е.

Отже, проведені дослідження показали, що введення поросят у день відлучення комплексного ліпосомального препарату «Ліпоген» зумовлює корекцію прооксидантно-антиоксидантної рівноваги організму, сприяє підвищенню резистентності та енергії їх росту. З цих позицій метаболічна корекція вільнорадикальних процесів в організмі поросят розглядається як новий перспективний напрям підвищення імунного потенціалу тварин.

У цілому, одержані результати досліджень свідчать, що нові комплексні препарати «Антоксан» і «Ліпоген» володіють антиоксидантними та імуномодулюючими властивостями. Механізм дії таких препаратів реалізується через стабілізовані імунокорегуючі глікопротеїди, отримані за новою оригінальною технологією, депонуючі та емульгуючі компоненти та інші біологічно активні речовини. Препарати у вигляді ліпосомальної емульсії дозволяють поєднати в одній ін'єкції діючі речовини з різними фізико-хімічними властивостями, запобігають швидкому перетворенню зв'язуванню діючих речовин печінкою, забезпечують пролонговану їхню циркуляцію у крові. Застосування препаратів нормалізує регіональний і загальний оксидантний статус тварин, справляє позитивний вплив на метаболізм жирних кислот та жирнокислотний склад ліпідного компоненту мембран імунокомпетентних клітин, підвищує формування напруженості поствакцинального імунітету, підтримує оптимальні метаболічні умови для рецепції антигенів, антигенного процесінгу клонової проліферації, регуляції та спеціалізації лімфоїдних клітин. Виявлений антиоксидантний ефект отримано за умов комбінованого застосування у складі препаратів антиокислювачів з різним механізмом антирадикальної дії. Препарати розроблені на базі сировини виключно вітчизняного виробництва. Випробування препаратів в умовах тваринницьких господарств України показали високу безпечність і ефективність.

В Інституті біології тварин НААН розпочато роботу з дослідження ад'ювантних й імуногенних властивостей синтетичних нанорозмірних сполук полімерної природи, які потенційно можуть бути використані при розробці вакцин для профілактики захворювань у тварин. Єдиними ад'ювантами, які в даний час дозволені для використання в більшості країн, є гідрат окису

алюмінію і фосфат алюмінію, які протягом багатьох років використовувалися для підвищення реакції антитіл, наприклад, на токсод дифтерії. Тому проблема розширення арсеналу таких лікарських засобів є актуальною.

Висновки.

1. Вакцинація телят проти колібактеріозу з одночасним введенням комплексного препарату «Антоксан» стимулює формування клітинного компаркменту імунної системи та антиоксидантний захист, що супроводжується збільшенням кількості Т-хелперів ($p < 0,05$), авідності В-лімфоцитів ($p < 0,05$), IgG₂ і IgM ($p < 0,05-0,001$), підвищенням титру специфічних антитіл ($p < 0,05$), бактерицидної та лізоцимної активності ($p < 0,05-0,01$), зменшенням концентрації малонового діальдегіду ($p < 0,05$) та підвищенням активності глутатіонпероксидази ($p < 0,05$) в крові.

2. Комплексний ліпосомальний препарат «Ліпоген» введений поросяткам за день до відлучення знижує у них стресову реакцію і зменшує пероксидне окиснення ліпідів і підвищує показники клітинних і гуморальних факторів захисту організму. При цьому зростає проліферація, диференціація і дозрівання Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність ($p < 0,05-0,01$), збільшується бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові ($p < 0,05-0,01$) та фагоцитоз нейтрофілів крові ($p < 0,05-0,01$), знижується концентрація гідроперексидів ліпідів ($p < 0,05$) і збільшується середньодобовий приріст їх маси тіла на 12-15 %.

Список літератури

1. Віщур, О. І. Вплив тимогену і левамизолу на формування клітинного імунітету поросят при вакцинації // О. І. Віщур / Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин УААН і ДНДКІ ветпреп. та корм. добавок. – Львів, 2005. – Вип. 6, № 1. – С. 12-15.
2. Ярема, Н. О. Вплив тималіну на клітинний і гуморальний імунітет у поросят // Н. О. Ярема, В. В. Снітинський, О. І. Віщур / Науково-технічний бюлетень Інституту землеробства і біології тварин. – Львів, 1999. – Вип. 1(3). – С. 198-201.
3. Віщур, О. І. Вплив тимогену і левамизолу на імунобіологічну реактивність у телят // О. І. Віщур, І. В. Кичун, І. В. Скорохід / Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. – Львів, 2001. – Вип. 1-2. – С. 281-286.
4. Віщур, О. І. Вплив тимогену і левамизолу на формування імунобіологічної реактивності та вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у крові телят при вакцинації // О. І. Віщур, І. Є. Соловдзінська, Т. О. Сокирко / Наук.-техн. бюл. Ін-ту біол. тварин та ДНДКІ вет. преп. та корм. доб. – Львів, 2007 – Вип. 8, – № 3-4. – С. 37-40.
5. Нові ефективні препарати для профілактики і лікування захворювань у тварин / В.В. Влізло, О.І. Віщур, І.В. Кичун, Р.С. Ясницький // Вет. мед.: Міжвід. темат. наук. збірн. Інституту експерим. і клін. вет. мед. УААН. – Харків, 2004. – № 9. – С. 169-173.
6. Vishchur, O. Application of brand-new preparations for correctio of animal's immune functions // O. Vishchur, I. Kychun, N. Salyha / Біологія тварин. – 2002. – Т. 4, № 1-2. – С. 145-148.
7. Технічні умови. №244.30995014.001-2003. Імуномодулюючий препарат «Антоксан» / В. Г. Квачов, Т. О. Сокирко, О. Я. Карась, В. В. Влізло, О. І. Віщур, І. Б. Ратич, Ю. М. Косенко, П. П. Фукс – від 15.04.03. – 16 с.
8. Деклараційний патент на винахід, №67102. Препарат для підвищення імунного потенціалу і антиоксидантного захисту у сільськогосподарських тварин «Антоксан» / О. І. Віщур, В. Г. Квачов – опубл. 15.06.04. Бюл. №6-5 с.
9. Віщур, О. І. Ефективність дії ліпогену на систему антиоксидантного захисту та клітинний імунітет у телят // О. І. Віщур, В. В. Влізло / Вісник аграрної науки. – 2006. – № 11. – С. 44-48.
10. Технічні умови. № 24.4.30995014.002-2003. Препарат протизапальної дії для лікування тварин «Ліпоген» / В. В. Влізло, І. В. Кичун, О. І. Віщур, П. Є. Андрійчук, Р. С. Ясницький. – від 17.07.03. – 30 с.
11. Roy, M. Supplementation with selenium and human immune cells functions. 1. Effect of lymphocyte proliferation and interleukin 2 receptor expression // M. Roy, L. Kiremidjian-Schumacher, H. Wishe / Biol. Trace Elem. Res. – 1994. – 41. – 103-113.
12. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений // В. Г. Передерий, А. М. Земсков, Н. Г. Бычков и др. / К. – 1995. – 210 с.
13. Земсков, В. М. Принципы дифференцированной иммунокоррекции // В. М. Земсков, А. М. Земсков / Иммунология. – 1996. – № 3. – С. 4-6.
14. Beel, J. I. Molecular anatome of immune response // J. I. Beel / Immunol. Rev. – 1998. – V.163. – P. 5-18.

NOVEL CLASS OF IMMUNOTROPIC AND ADJUVANT DRUG COMPOSITIONS FOR PREVENTION OF ANIMAL DISEASES

Vlizlo V.V, Vishchur O. I.

Institute of Animal Biology NAAS, Lviv

The new type of immunotropic and adjuvant veterinary drugs ("Antoxan" and "Lipogen") has been created in the Institute of Animal Biology NAAS for treatment and prevention diseases of farm animals. The mechanism of their action implemented via stabilized immunocorrecting glycoproteins, accumulating and emulsifying components and other biologically active substances to ensure their prolonged circulation in blood. Using of this drugs leads to normalizing local and general oxidant status of animals, creates positive effects on the metabolism of fatty acids and fatty acid composition of lipid membrane component of immunocompetent cells, increases the formation of postvaccinal stress, supports optimal metabolic conditions for the reception of antigens, the transition cloned antigen proliferation, regulation and specification of lymphoid cells. High efficiency of the drugs "Antoxan" and "Lipogen" estimated by laboratory tests and implementation in the veterinary practice. The researches of adjuvants and immunogenic properties of nanosized synthetic polymer compounds with potentially using in creation of vaccines for animals were started.

УДК 619:616.34-022-07:636.2-053.2

РОЗРОБКА ОЛІГОНУКЛЕОТИДНИХ СИСТЕМ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ САЛЬМОНЕЛ У БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ

Герілович А.П., Ареф'єв В.Л., Воек С.І.

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

Сальмонельози є загальносвітовою медико-ветеринарною проблемою. Основні ризики щодо інфікування людей тісно пов'язані з контамінованими сальмонелами продуктами харчування. Це зумовлює необхідність досліджень зі створення засобів ефективної детекції збудника у сировині тваринного походження. У роботі за допомогою методологій біоінформатичного аналізу описана розробка родо- і видоспецифічних олігонуклеотидних систем для детекції мікроорганізмів з групи сальмонел. Створено та перевірено за допомогою засобів мікро- і макроаналізу праймери для індикації ДНК бактерій роду *Salmonella* та серотипів *Salmonella enterica enteritidis* та *typhimurium*. Їх у подальшому планується застосувати для конструювання засобів детекції збудника в харчових продуктах та тваринницькій сировині.

Сальмонельози – це група інфекцій людини, сільськогосподарських та диких тварин і птиці, які етіологічно зумовлюються бактеріями роду *Salmonella* і супроводжуються розладами травної системи різного ступеня, гарячкою та інтоксикацією, що нерідко стають фатальним фактором у патогенезі хвороби [1].

За даними ФАО понад 20 % птахівничої продукції у світі контаміновані сальмонелами. Крім того, збудник часто виявляється у молочних і м'ясних продуктах скотарства і вівчарства [2].

Основну роль у структурі контамінантів сільськогосподарської продукції відіграють серотипи *Salmonella enterica enteritidis* та *typhimurium*, що є патогенними для людини і багатьох видів тварин [2, 3].