

УДК: 578.72:579.66:615.1

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНИХ ПРЕПАРАТІВ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Бова Т.О., Решотько Л.М.

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН,
вул. Шевченка, 97, Чернігів, 14027, Україна
E-mail: tanya_bova@list.ru

Наведено результати дослідження біологічної активності комплексних препаратів мікробного походження. Встановлено, що препарат, розроблений на основі продуктів біоксинтезу псевдомонад і дріжджового манану проявляє виражену антивірусну активність та стимуляторну дію на клітинну ланку імунітету тварин.

Ключові слова: *комплексні препарати, тешовірус, антивірусна активність, імунітет, фагоцитарна активність.*

Сучасний епізоотичний стан щодо вірусних хвороб сільськогосподарських тварин, які частіше супроводжуються імуносупресією, потребує високоефективних та безпечних противірусних препаратів широкого спектру дії. У зв'язку з цим актуальним залишається розробка та застосування препаратів, які поєднують властивості імуномодулятора 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 імуностимуляторною та антивірусною активністю є малотоксичні сполуки мікробного походження [5, 6]. Тому метою нашої роботи було дослідити антивірусну та імуностимуляторну 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 культури *Pseudomonas sp.* PS-17 та β -глюкану, виділеного з *Ganoderma adpersum*, 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 свиней 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 (C_1), 1:100 (C_2), 1:1000 (C_3). Після інкубації при 37 °С упродовж 1 доби вносили вірус із розрахунку 100 ТЦД₅₀/см³. Через 24 години інкубації при 37 °С зразки переглядали під оптичним мікроскопом, тричі заморожували і розморожували. Після цього інфекційну активність зразків визначали в моношарі культури клітин ВНК-21 за методом Л. Ріда і Х. Менча [7].

Вплив комплексних препаратів на неспецифічну резистентність тварин проводили на кролях породи сірий велетень віком 6 місяців і масою 2-2,5 кг. Було сформовано 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 у тій же дозі. Кров відбирали через 1, 2, 3 тижні після введення. За тваринами дослідних і контрольних груп проводили щоденне клінічне спостереження упродовж досліджу.

У крові тварин, стабілізованій антикоагулянтом, 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 Р).

Результати та обговорення. Встановлено, що титр тешовірусу штаму «Дніпровський-34» у культурі клітин ВНК-21 без внесення досліджуваних речовин становив $7,50 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

Максимальний антивірусний ефект КП 3 спостерігали при співвідношенні у підтримуючому середовищі 1:100. Інфекційний титр тешовірусу знижувався на $2,75 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. За співвідношення 1:10 та 1:1000 репродуктивна активність тешовірусу знижувалася відповідно на $1,25$ та $2,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ (рис.).

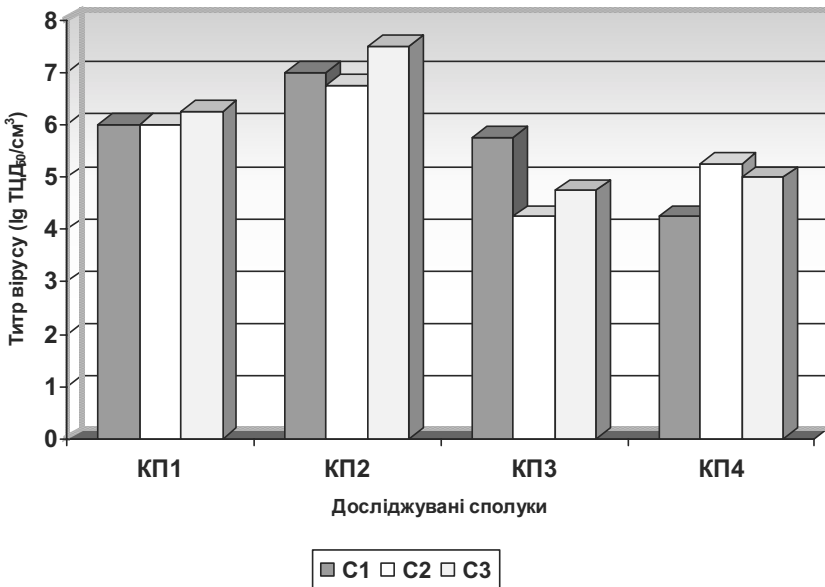


Рис. Вплив комплексних препаратів на інфекційну активність тешовірусу в культурі клітин ВНК-21

Комплексний препарат № 4 проявив найвищу антивірусну активність у всіх досліджуваних співвідношеннях. Інфекційний

титр тешовірусу знижувався на $2,75 \lg \text{TЦД}_{50}/\text{см}^3$ 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 $2,00 \lg \text{TЦД}_{50}/\text{см}^3$, відповідно.

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

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 $0,5 \lg \text{TЦД}_{50}/\text{см}^3$.

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

При вивченні впливу комплексних препаратів мікробного походження на фагоцитарну активність клітин крові тварин 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 були вищими за показники позитивного контролю (табл.).

Після введення КП 3 елімінуюча здатність крові тварин упродовж дослідів 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.

Інтенсивність поглинальної функції фагоцитів, індекс перебігу фагоцитозу, елімінуюча здатність крові після введення КП 1 та КП 2 були вищими порівняно з негативним контролем, але нижчими за показники позитивного контролю.

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): * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$.

Отже, 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 стимуляторну дію на клітинну ланку імунітету тварин.

1. Санин А.В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных /Санин А.В. //Росс. ж. вет. медицины. – 2005. – № 1. – С. 38–42.

2. Бокарев А.В. Критический анализ эффективности применения стимуляторов иммунитета при нервной форме чумы собак /Бокарев А.В., Переверзева А.В. //Вет. практика. – 2000. – № 3. – С. 7–12.

3. Ожерелков С.В. Механизмы противовирусного действия фоспренила: принципы профилактики и лечения вирусных болезней /Ожерелков С.В., Кожевникова Т.Н. //Вет. клиника. – 2003. – № 1. – С. 21–25.

4. Ершов Ф.И. Антивирусные препараты: справочник. – [2-е изд.]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – С. 192–225.

5. Бова Т.О. Скринінг речовин мікробного походження з антивірусною активністю *in vitro* /Бова Т.О. //Біологія тварин. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 503–507.

6. Спивак Н.Я. Антибактериальная эффективность препаратов интерферона и его индукторов /Н.Я. Спивак, Грабченко Н.И., Лазаренко Л.Н. [и др.] //Мікробіол. журн. – 1999. – Т. 61, № 1. – С. 32–45.

7. Reed L.J. A simple method of estimating fifty per cent endpoints /Reed L.J., Muench H. //Amer. J. Hyg. – 1938. – Vol. 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 /Лакин Г.Ф. – [4-е изд.]. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНЫХ ПРЕПАРАТОВ МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Бова Т.А., Решотько Л.Н.

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, г. Чернигов

В статье приведены результаты исследования анти-вирусной и иммуномодулирующей активности комплексных препаратов микробного происхождения. Показано, что препарат, разработанный на основе продуктов биосинтеза псевдомонад и дрожжевого маннана, проявляет выраженную антивирусную активность и стимулирующее действие на клеточное звено иммунитета животных.

Ключевые слова: *комплексные препараты, тешовирус, антивирусная активность, иммунитет, фагоцитарная активность.*

BIOLOGICAL ACTIVITY OF COMPLEX PREPARATIONS OF MICROBIAL ORIGIN

Bova T.O., Reshotko L.M.

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv

Article presents the results of biological activity study of complex preparations of microbial origin. It was established that complex preparation created on basis the biocomplex of culture of pseudomonades and yeast manan possess strongly pronounced antiviral activity and stimulatory action on cellular link of animal immunity.

Key words: *complex preparation, teschovirus, antiviral activity, immunity, phagocytosis activity.*